E.S.A.7

Ano 1944

Tomo 40

Fascículo 1

# MEMÓRIAS
## DO
# INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Brasil

1944
IMPRENSA NACIONAL
RIO DE JANEIRO — BRASIL

# ÍNDICE

Tomo 40 Fevereiro, 1944 Fascículo 1

TRAVASSOS, LAURO — Atuação científica de Arthur Neiva no campo da Biologia ..... I-VI

MAGALHÃES, OCTAVIO e ROCHA, ADYR — Contribuição para o conhecimento do tifo exantemático neotrópico no Brasil ..... 1-8

SOUZA-ARAUJO, H. C. DE — Culturas de bacilos ácido-álcool resistentes isolados de hematófagos infectados em leprosos. Evidências de se tratar do bacilo de Hansen ..... 9-31

TEIXEIRA DE FREITAS, J. F. — Estudos sôbre nematóides Filarídeos. Genótipo de Dipetalonema Diesing, 1861; valor dos gêneros Acanthocheilonema Cobbold, 1870 e Breinlia Yorke & Maplestone, 1926.. 33-46

LINHARES, HERMINIO e BORGES FORTES, A. — Mielencefalite espontânea dos camundongos ..... 47-85

OLIVEIRA, LEJEUNE P. H. DE — Sôbre a existência na baía do Rio de Janeiro de uma Aranha do mar originária do Oceano Pacífico: *Libinia rostrata* Bell, 1835; *Majidae, Decapoda* ..... 87-90

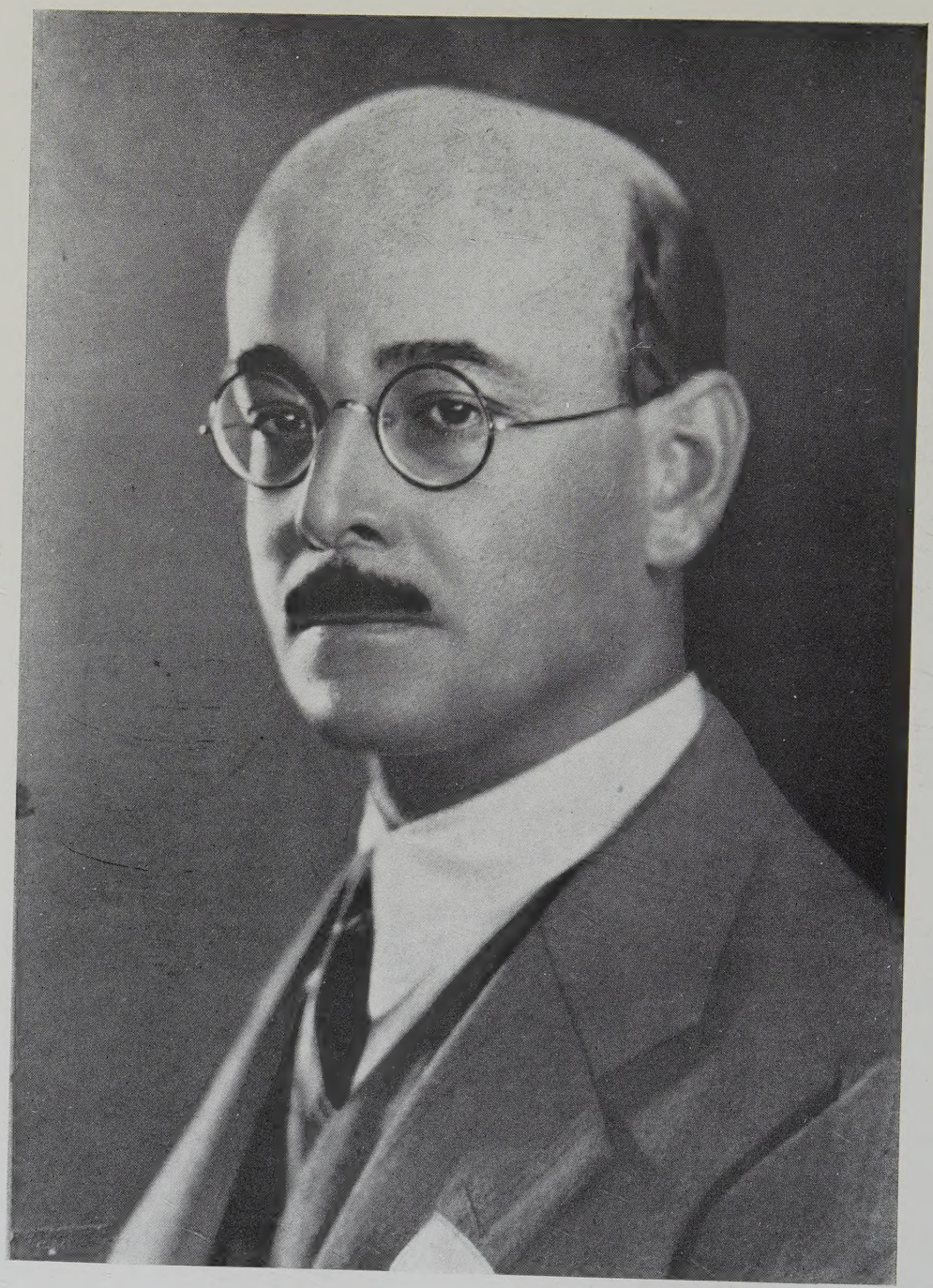
SALLES, JONIO F. DE — Hemângio-retículo-endotelioma do pericárdio..... 91-99

MARIANO, JOSÉ — Resultados do emprêgo das leprolinas "Souza-Araujo" comparativamente com o da lepromina ..... 101-119

As **MEMÓRIAS,** orgão oficial do Instituto Oswaldo Cruz, editadas sob a direção do Dr. H. C. de Souza-Araujo, são reservadas, exclusivamente, à publicação de trabalhos nele realizados, e aparecerão em fascículos bimensais ou trimensais.

Toda a correspondência deverá ser dirigida à:

REDAÇÃO DAS MEMÓRIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
CAIXA POSTAL 926—ENDEREÇO TELEGRÁFICO: "MANGUINHOS", RIO
RIO DE JANEIRO—BRASIL



**Dr. Arthur Neiva**

N. 22 de Março de 1880
F. 6 de Junho de 1943

# Atuação científica de Arthur Neiva no campo da Biologia

por

Lauro Travassos

A impressionante personalidade de Arthur Neiva merece que sôbre ela seja escrito um amplo e documentado volume, abrangendo os múltiplos aspectos da sua vida intensa e produtiva. Tentaremos aqui um resumido apanhado da sua atuação no campo da biologia.

As primeiras tentativas de estudos biológicos no Brasil fôram feitas por corajosos pioneiros, na época colonial. Incompreendidos pelo ambiente e entravados pela metrópole falharam todos, restando alguns manuscritos nos arquivos para documentar a mentalidade da época. Sòmente Marcgrave & Piso tiveram seus estudos publicados, graças ao amparo de Mauricio de Nassau. Não havia interêsse em que a colônia fôsse conhecida dos outros países colonizadores.

Com o advento da independência, um grupo de cientistas foi trazido da Europa na côrte da jovem Imperatriz. Nomes dos mais notáveis da época aqui aportaram permanecendo por longo tempo gozando de tôdas as facilidades do Govêrno; estudando a nossa fauna e flora. Trabalhos notáveis apareceram. Mas o brasileiro, quando não foi ridicularizado, foi apenas tratado com delicado desprêzo. Centros de estudos não fôram criados, as coleções emigraram para além-mar. Criou-se entre a nova gente a impressão de que para ser naturalista era indispensável ser barbudo e alemão. Quando na literatura aparece a descrição de um biologista, sempre é representado sob êste aspecto, acrescido de atitudes esquisitas, senão ridículas. Para tôdas as tentativas de se formarem centros de pesquisas e estudos biológicos, era necessário contratar sábios do Velho Mundo que vinham ao país, acompanhados de auxiliares, e o fruto de seus estudos e esforços eram diretamente encaminhados à Europa. Formar discípulos, julgaram não ser praticável, o país era habitado por uma população de mestiços incapazes de observar e ainda menos de realizar estudos sérios. Não valia a pena perder tempo com êles.

Assim se arrastou a biologia durante o tempo do Império, não obstante os esforços e a cultura de nosso segundo Imperador. O complexo estava formado na alma do jovem povo: ser naturalista, não sendo extrangeiro, era ridículo e inútil. Os poucos brasileiros que surgiram, ou eram desamparados,

ou tinham aprendido o que não deviam — o egoismo de não formar discípulos — mal que, infelizmente, ainda não desapareceu completamente. Não obstante aparecerem grandes vultos na Medicina, esta era bem diversa da atual. Ainda no início do século XX, homens de valor, atordoados pelas novas diretrizes que a campanha contra a febre amarela imprimia aos conhecimentos de patologia humana, tinham desabafos sinceros, como êste, registrado nas páginas do "Brasil-Médico": "Está se transformando a medicina em zoologia".

Foi neste ambiente de incompreensão que o benemérito govêrno Rodrigues Alves encarregou Oswaldo Cruz da extinção da febre amarela no Rio de Janeiro. Todos podem avaliar, através das páginas de Sales Guerra, o que representou de esfôrço e coragem esta campanha. Oswaldo, homem excepcional, conhecedor do meio, de impecável espírito de justiça, tenaz, culto e patriota, soube cercar-se de auxiliares e colaboradores. Obtida a vitória no terreno da atuação material, não descansou sôbre os louros. Inverteu, em benefício da cultura do país e do estudo do Brasil pelos brasileiros, o enorme prestígio que a vitória sôbre a febre amarela lhe dera. Conhecedor do meio, não perdeu tempo em demonstrar, no país, a excelência dos estudos feitos em Manguinhos. O meio não compreenderia, como ainda hoje pouco compreende; era preciso o aplauso de fóra. O triunfo de Berlim alicerçou em bases sólidas a nacionalização da pesquisa. O tabu de que a raça mestiça do país era incapaz, foi desmoralizado. Muitos compreendiam, outros fingiam compreender. Um homem que tinha acabado a febre amarela no Rio e obtido tão assinalados triunfos na Europa, devia ter razão. Dêste modo, foi criado o primeiro núcleo brasileiro de cultura biológica.

Oswaldo havia sabido cercar-se de jovens, escolhidos pelas suas capacidades de inteligência e de caráter, cheios de fé na ciência e no Brasil. Homens que ràpidamente iriam aparecer como figuras de primeira grandeza no cenário científico mundial. Entre os primeiros nomes reunidos em torno de Oswaldo, estava Arthur Neiva. Conhecia o grande Mestre a capacidade da nossa gente e as deficiências do meio. Nomes ilustres do estrangeiro fôram convocados a virem até Manguinhos, não para arrebanharem material científico e observações para seus estudos de além-mar, como até então se fazia, mas para trabalhar nos laboratórios ao lado e ombro a ombro de homens capazes, que Oswaldo havia reunido. Os louros conquistados foram divididos com seus colaboradores. Outros foram enviados aos centros de cultura no estrangeiro, não para se iniciarem, mas para se aperfeiçoarem e verem de perto o que lá se fazia. Educado nesta Escola, Neiva demonstrou logo o acerto da escolha do Mestre. Iniciando-se pela entomologia, em breve tornou-se especialista notável em culicídeos. Estavamos na época das grandes e difíceis campanhas de realização prática. O Rio, com deficiência no abas-

tecimento dágua, tinha esta realização entravada pela malária. A capacidade técnica de um dos nossos mais notáveis vultos da engenharia esbarrava e parava diante do *Anopheles*, e em memorável campanha vence o minúsculo inseto. Não foi sòmente o saber lançado à luta; foi, também, necessário resistência indomável, capacidade de trabalho e coragem pessoal. A incompreensão dos rudes operários, considerando a quinina substância nociva à virilidade, tudo dificultava. As crendices provocaram verdadeiras revoltas à mão armada. Não obstante o trabalho exaustivo de médico e de educador de homens rudes, encontrou Neiva tempo para estudos dos mais notáveis sôbre a ecologia do inseto transmissor e sôbre o protozoário parasita.

Os culicídeos, principalmente os *Anophelinae* foram meticulosamente observados em seus hábitos, principalmente no que se refere as relações com o homem. Os meios de afastá-lo das moradas humanas ou de proteger o homem do seu ataque. A medicação preventiva foi estudada sendo o padrão até então adotado modificado. Sôbre a moléstia, fôram feitas observações cuidadosas sendo evidenciada a possibilidade do hematozoário se adaptar ao quinino, único medicamento até então realmente eficaz contra a malária.

Uma série de novas e brilhantes conquistas se seguiu no campo da parasitologia. Não demorou muito que o experimentado lutador do Xerém tivesse nova e árdua incumbência. Abria-se uma estrada de penetração rumo ao oeste — a Estrada de Ferro Noroeste do Brasil. Tinha esta nova linha que percorrer zonas inteiramente desabitadas por homens civilizados. Atravessava florestas das mais belas e espessas da nossa terra e percorria, em centenas de quilômetros, as margens pantanosas do rio Tieté, onde a malária constituia obstáculo mais sério que as florestas e as distâncias. Foi Neiva designado para chefiar a campanha. Neste novo empreendimento, já lidava com operários menos refratários, mas havia a temer a flecha do indomável Coroado. Os trabalhos se estendiam por centenas de quilômetros, em grupos isolados, sempre espreitados pelo selvícola corajoso e inclemente. Novos louros foram conquistados e novas pesquisas no terreno da parasitologia e da entomologia. Hoje, quem percorre esta linha, nem de longe imagina as dificuldades de sua construção. Neiva não sòmente era o médico, o higienista, o biologista, mas também o companheiro jovial e animador dos engenheiros. Um dêstes, meu irmão, que já servira no Xerém e novamente trabalhava no avançamento dos trilhos da Noroeste, referia-se a Arthur Neiva com entusiasmo e admiração. O acampamento médico era o "oasis" onde se podia ter algum repouso espiritual e conversar com alguém que não fôsse feitor ou operário, dizia sempre, quando relatava as lutas da construção da Noroeste.

Durante esta campanha novas observações sôbre os mosquitos fôram feitas e enorme material de dipteros hematófagos veio enriquecer as cole-

ções do Instituto e dar origem a valiosas publicações. Pela primeira vêz foram assinaladas matas frondosas desprovidas de bromeliáceas epidendras e em terreno sêco como existiam no divisor das águas entre os Rios Tiété e Mogy-Guassú e desde Araçatuba até Jupiá. Por esta área, que Neiva visitára acompanhando o serviço dos seccionistas, é que no entender de Neiva devia passar o traçado da estrada. Esta sugestão não foi aceita na ocasião, mas foi realizada cêrca de 15 anos mais tarde sendo a linha marginal ao Tiété abandonada tal a dificuldade de ser mantido o pessoal da estrada em condições de saúde por muitas semanas.

Vencida mais esta campanha, teve Neiva a atenção despertada para novo capítulo da zoologia médica, que a extraordinária descoberta de Carlos Chagas pusera em evidência: o estudo do hemíptero transmissor da tripanosomose americana. Ràpidamente, tornou-se a maior autoridade neste grupo de insetos, estudando exaustivamente seus hábitos e evolução, caracterizando numerosas espécies. Para isso percorreu os museus da América do Norte e da Europa.

Estudou também as vias de penetração dos tripanosomas nos vertebrados.

Viajou nosso interior, realizando observações do maior valor, não sòmente biológicas, como sôbre os mais variados assuntos.

Coletou abundante material que serviu de fundamento à várias e importantes contribuições para o conhecimento da parasitologia nacional.

Convidado para instalar a Seção de Zoologia Médica do Instituto de Bacteriologia de Buenos Aires, desempenhou-se da incumbência com a maior eficacia. Viajou várias regiões da Argentina e fez importantes estudos sôbre a parasitologia deste país tendo resultado valiosas publicações em colaboração com colegas argentinos. Orientou durante largo espaço de tempo o Serviço Sanitário do Estado de São Paulo, remodelando-o e fundando centros ou núcleos de estudos sôbre plantas medicinais. Nesta ocasião, incrementou e animou uma série de publicações do maior interêsse, sôbre assuntos médicos e higiênicos; dentre estas se destacam os interessantes trabalhos intitulados "Vegetais antelmínticos empregados como vermífugos na Medicina popular" e "O que vendem os hervanários de São Paulo", assuntos inteiramente descurados em nosso meio.

Organizou e dirigiu a campanha contra a broca do café no Estado de São Paulo, campanha da maior responsabilidade pelas grandes dificuldades técnicas a vencer, sem paradigma para orientar e cujo interesse econômico era enorme. Desta campanha resultou, vigoroso rebento de Manguinhos, o Instituto Biológico de São Paulo.

Para orientar esta campanha foi o coleóptero produtor da praga estudado cuidadosa e minuciosamente nos menores detalhes, sendo desvendada tôdas as fases de sua evolução, meios de dispersão e os agentes mais eficazes em seu combate.

Para uma vida tão ativa e rendosa era preciso ter sido formado à maneira da Grécia antiga, possuir cultura intelectual e física. Era Neiva forte e resistente, sempre alegre e bem humorado. Não conhecia o despeito e era generoso, até perdulário na distribuição dos seus conhecimentos e na animação aos mais novos. Auxiliava, animava, entusiasmava os recem-chegados à casa de Oswaldo.

Bibliófilo, estava sempre a indicar literatura sôbre os mais variados assuntos. Já viu tal trabalho? Leu tal outro? Já percorreu a revista tal para ver se existe alguma coisa sôbre seus estudos? Isto, quando não ia pessoalmente à biblioteca, procurar e trazer ao noviço o artigo que carecia. Diante da perplexidade na feitura do primeiro trabalho, dizia: E' assim mesmo, o primeiro trabalho é o mais difícil, o segundo será mais fácil e depois não terá mais dificuldades. Lia, interessado, os primeiros esboços, aplaudia, sugeria modificações, sempre se desculpando e alegando já ter tido as mesmas dificuldades.

Homem de cultura invulgar e polimorfa, sem invejas nem egoismos, leitor insaciável, muito contribuiu para o engrandecimento e ampliação da Biologia em nosso país. Aplaudia com sinceridade os triunfos alheios, animava nas horas de desalento motivadas pela incompreensão: "Trabalha, trabalha, nada resiste ao trabalho", era frase frequente junto aos jovens, nas horas de desânimo. Ninguém recorria ao seu auxílio sem ser atendido desinteressadamente, pelo sadio prazer de gozar os triunfos alheios. Mas, não era preciso recorrer a Neiva: observador perspicaz, sentia as dificuldades dos moços e dêles se acercava, trazendo o auxílio de sua cultura, de sua experiência e a fé do seu coração.

Poucos dos que recorrem à magnífica biblioteca de Manguinhos, sabem o quanto para ela contribuiu. Quantos trabalhos são lidos e apreciados sem que se saiba o que encerram de animação e cooperação de Arthur Neiva. Quantos homens se fizeram notáveis graças ao encorajamento dêste espírito.

Neiva foi um discípulo digno do Mestre e como êle também um catalizador. Depois de haver ajudado a formar Mestres e também fazê-los, foi mais longe. Formou novos núcleos de estudo, no Brasil, e no estrangeiro. Suas contribuições à parasitologia, à medicina tropical, à higiene, são atestadas pela sua vultosa bibliografia. A sua capacidade de formar discípulos e orientá-los sem os conduzir, de maneira a que adquirissem personalidade pró-

pria, é demonstrada por muitos dos seus discípulos que, não raro, não percebem com nitidez o que a êle devem, tal a arte e a generosidade com que orientava.

Apesar das árduas tarefas de organizador e dirigente e, até mesmo de político, nunca parou de pesquisar e se manter ao par do movimento científico em todos os ramos da biologia. Colhido, inesperadamente, pela morte, deixou trabalhos em impressão e outros por concluir.

Que a Justiça dos brasileiros e o reconhecimento dos seus discípulos, gravem na imponente fachada do Instituto Biológico de São Paulo, como já foi lembrado, o nome glorioso de Arthur Neiva.

Manguinhos, 15 de fevereiro de 1944.

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo 40 Fevereiro, 1944 Fascículo 1

# Contribuição para o conhecimento do tifo exantemático neotrópico no Brasil

pelos Drs.

Octavio de Magalhães e Adyr Rocha (*)

A lista dos animais domésticos ou silvestres portadores do tifo exantemático neotrópico no Brasil já é longa. Portadores de vírus ou com a possibilidade, pelas experiências de laboratório, de apresentarem a moléstia inaparente. Em várias comunicações anteriores, temos anotado um grande número dêles. Entre todos destacamos o *Canis familiaris*, isto é, o cão doméstico, cujo papel importante apuramos pela primeira vez na América em 1933 e 1934.

A primeira publicação sôbre a matéria saiu em maio de 1935, no *Brasil Médico* n. 21. Mais tarde fizemos um histórico do descobrimento do papel do cão na constituição dos focos da moléstia exantemática brasileira e publicamos o trabalho em julho de 1942, com o próposito de salientar os trabalhos feitos em Minas Gerais sôbre o assunto. Apesar de desconhecerem aquelas nossas pesquisas, Bader e Anigstein, em 1943, no *Texas Reports on Biology and Medicine*, confirmam os nossos estudos feitos em Minas Gerais. E' o quanto nos basta.

Em trabalhos nos focos da moléstia, provamos também, em 1940 e 1941, pela primeira vez que o *Homo sapiens* poderia, como o cão e numerosos outros animais, ser reservatório de vírus, o que tornava muito mais interes-

(*) Trabalho da Divisão de Estudos de Endemias do Instituto Oswaldo Cruz e do Laboratorio de Fisiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Minas Gerais.

* Recebido para publicação a 8 de janeiro e dado à publicidade em fevereiro de 1944.

sante o problema da profilaxia da doença. O homem póde ter a moléstia inaparente, com grande quantidade de vírus VB, VA1 e VA2 no sangue. Primitivamente, é óbvio, a doença é silvestre o que acontece também com numerosas outras, já hoje bem estudadas. Os focos domiciliares são consequência da adaptação ao homem do micróbio. Dêsse modo, as possibilidades dos animais silvestres serem depositários de vírus, devem ser cuidadosamente perquiridas. E' um caminho auxiliar à orientação das medidas que, em conjunto, devem visar a profilaxia da doença.

Em 1939, mostramos que *Felis wiedi* era sensível ao vírus VB. Hoje vamos trazer nova contribuição, não só sôbre o gato do mato, que pode ter a doença inaparente, como também sôbre o Coatí, o Furão e o Tatú.

## Coati (*Nasua narica*)

Em 11 de julho de 1941, se inoculou, por via peritoneal, com uma suspensão de sistema nervoso central do cobaio 761, um *Coati* (*Nasua narica*), tendo sido colhidos os seguintes resultados :

Termograma da cobaia 761, vírus VB em sua 17.ª passagem.

39, 5/39, 2/39, 7/40, 6/40, 8/40, 7/40, 5/ Sacrificada: Reação vulvar e esplenomegalia. O S. N. C. inoculado em 3 cobaios, 2 machos e uma fêmea, tendo todos reagido tìpicamente.

O coati durante tôda a experiência não deu mostras de sofrimento, tendo se alimentado regularmente, estando sempre muito esperto. Seu termograma foi o seguinte:

39 1/39, 0/38, 8/38, 9/38, 8/38, 6/39, 2/38, 3/39, 3/39, 3/39, 3/39, Sangrado para W. F. e cobaio 3/39, 0/39, 2/39, 2/39, 0/40, 0/39, 2/39, 2/ Alta, continuando em observação até 12/8/9941 quando foi novamente sangrado no coração, para Weil Felix e inoculação em cobaio.

A) *O sangue retirado na primeira sangria,* dia 22/7/1941, após 11 dias de inoculação foi injetado nos cobaios 1427 e 1766, tendo sido ainda feito com êle Weil Felix. Os resultados obtidos foram os seguintes:

C — 1427 — 38, 8/39, 3/40, 5/39, 7/39, 7/39, 6/39, 8/39, 1/39, 2/39, 5/39, 5/39, 1/40, 6/40, 0/ morto, reação vulvar, esplenomegalia, pequeno derrame seroso peritoneal, congestão pulmonar.

C — 1766 — 39, 4/39, 5/40, 1/40, 2/39, 7/40, 1/39, 7/38, 7/39, 7/39, 5/39, 7/39, 5/39, 7/40, 0/40, 2/39, 7/40, 0/39, 7/39, 5/39, 3/40, 1/39, 7/40, 0/39, 3/39, 7/ reinoculado com S. N. C. do cobaio 725, correspondendo à 23.ª passagem do vírus VB, tendo então reagido termicamente, como

se vê a seguir — 39, 7/39, 8/39, 7/40, 7/40, 5/41, 6/41, 7/41, 3/ morto com lesões típicas. Com o sangue do cobaio foi feito o Weil Felix, o qual deu o seguinte resultado: -OXK- 1:320 e HXK-1:320.

B) *O sangue retirado na segunda sangria, dia* 12/8/1941, após 33 dias de inoculação e 22 dias após a primeira sangria, foi injetado no cobaio 542, o qual morreu após 72 horas, sem apresentar lesões típicas, tendo o Weil Felix dado o seguinte resultado: HXK-1:80.

O Coatí (*Nasua narica*), é pois sensível ao vírus do Tifo Exantemático em Minas Gerais, — Vírus VB — apresentando quando inoculado por via peritoneal, uma moléstia inaparente, com vírus no sangue circulante e Weil Felix positivo de curta duração.

## Gato do Mato — (*Felis wiedi*)

Em 4 de julho de 1941, se inoculou por via peritoneal, com 6cc de uma suspensão de sistema nervoso central dos cobaios 1709 e 1737, um gato do mato (*Felis wiedi*), macho adulto. O animal também não deu mostra de sofrimento, sendo rebelde à tomada de temperatura, o que pode ter sido causa das ascensões encontradas no quadro térmico, alimentando-se perfeitamente bem durante toda a experiência, excéto nos últimos dias, quando entristeceu, vindo a morrer.

Os termogramas dos cobaios 1709 e 1737 são os seguintes: correspondem à 16.ª passagem de VB.

1709 — 39, 5/39, 7/39, 6/39, 5/40, 8/40, 4/40, 6/ sacrificado, lesões típicas.

1737 — 39, 1/39, 4/39, 5/40, 6/41, 2/40, 7/40, 6/ sacrificado, lesões típicas.

O S. N. C. dêstes dois cobaios foi passado nos de n. 1754 e 761, que reagiram tìpicamente.

O quadro térmico do gato do mato foi o seguinte:

39, 4/39, 1/39, 0/39, 5/38, 7/38, 8/39, 7/41, 0/39, 0/38, 5/39, 2/39, 3/38, 6/39, 3/39, 3/38, Sangrado 6/39, 2/39, 1/39, 8/39, 9/40, 2/39, 1/39, 7/40, 0/ alta, ficando em observação até 12/8/1941, quando sofreu segunda sangria, para inocular-se o cobaio 4538 e Weil-Felix.

A) *O sangue da primeira sangria,* executada no 17.º dia após inoculação virulenta foi injetado nos cobaios 322 e 1248 e usado para Weil-Felix.

C — 322 39, 6/39, 2/39, 3/39, 8/39, 6/39, 4/39, 7/39, 0/39, 8/39, 5/39, 5/39, 5/39, 7/39, 9/40, 0/40, 0/40, 2/40, 1/39, 8/40, 3/40, 0,/40, 6/40, 0/40, 2/40, 0/39, 7/ morte, lesões típicas.

C — 1248 — 39, 5/39, 4/40, 0/40, 2/39, 5/39, 6/40, 5/ (reação vulvar) 40, 4/41, 3/41, 0/41, 0/41, 0/ morta, reação vulvar e esplenomegalia.

O Weil Felix deu o seguinte resultado: OXK-1:320 e HXK-1:320.

B) *O sangue retirado na segunda sangria,* 39 dias após inoculação virulenta e 22 dias após a primeira sangria, forneceu os seguintes resultados: Inoculado no cobaio 4538 e feito Weil-Felix.

C — 4538 — 39, 5/39, 1/39, 0/40, 0/40, 0/40, 1/39, 1/39, 5/39, 3/39, 5/39, 6/39, 3/ morte, esplenomegalia.

O Weil-Felix mostrou: OXK-1:160 e HXK-1,160.

O gato do mato morreu no dia 14/8/1941, dois dias após a segunda sangria, tendo sido necropsiado — Nada foi constatado de anormal.

O Gato do Matto (*Felis wiedi*) é, pois, sensível ao vírus do Tifo Exantemático em Minas Gerais, — Virus VB. — apresentando, quando inoculado por via peritoneal, uma moléstia inaparente, com vírus no sangue circulante e Weil-Felix positivo.

## Furão (*Orison vittatus*)

Em 19 de julho de 1941, se inoculou, por via peritoneal, com 4cc. de uma suspensão do sistema nervoso central dos cobaios 3849 e 1405, um Furão, (*Orison vittatus*), adulto. O animal como os outros, mostrou-se esperto durante a experiência, entristecendo e morrendo 10 dias após ter-lhe sido dado alta.

Os termogramas dos cobaios 3849 e 1405 são o seguinte e correspondem à 18.ª passagem do vírus VB.

C — 3849 — 38, 8/39, 0/39, 6/39, 9/40, 3/40, 0/41, 3/41, 4/41, 5/ sacrificado, lesões típicas.

C — 1405 — 39, 3/39, 4/38, 6/39, 9/40, 4/40, 9/41, 0/40, 9/ sacrificado, lesões típicas. O S. N. C. de ambos foi inoculado em 3 cobaios, dois machos e uma fêmea, tendo todos apresentado lesões típicas.

O quadro térmico do Furão, foi o seguinte :

39, 6/39, 0/39, 6/39, 0/39, 2/39, 8/39, 8/39, 8/39, 0/39, 0/39, Sangrado 2/39, 3/39, 0/ alta, ficando em observação para segunda sangria, tendo,

porém, morrido em 11/8/1941; quando necropsiado, mostrou apenas esplenomegalia, não se notando reação vulvar.

Sangrado no dia 30/7//1941, com seu sangue inoculou-se o cobaio n. 374 e fez-se a reação Weil-Felix: Era o 11.º dia de inoculado.

C — 374 — 38, 9/39, 2/38, 7/38, 8/39, 6/39, 0/39, 9/38, 9/39, 1/39, 2/38, 6/39, 6/38, 9/39, 9/39, 3/39, 5/39, 6/39, 1/39, 6//39, 0/39, 2/ reinoculada com o S. N. C. do cobaio 200, correspondente à 24.ª passagem do vírus VB, reagiu tìpicamente, como vemos a seguir: — 39, 4/39, 4/39, 7/39, 6/40, 2/39, 9/40, 4/40, 4/ morte, lesões típicas.

| | | |
|---|---|---|
| HX | 19 | — 1:640 |
| OX | 19 | — 1:640 |
| HX | 2 | — 1:50 |
| OX | 2 | — 1:40 |
| OXL | | — 1:320 |
| HXL | | — 1:320 |
| OXK | | — 1:80 |
| HXK | | — 1:80 |
| PV | | — 0 |

O Furão (*Orison Vittatus*), é, pois sensível ao vírus do Tifo Exantemático em Minas Gerais, — Vírus VB — apresentando, quando inoculado por via peritoneal, uma moléstia, inaparente, com WEIL FELIX fortemente positivo (reação de grupo).

### O TATÚ (*Tatus novemcintus*)

Um tatú adulto n. 10, macho, foi inoculado, via peritoneal, com s. n. c. do vírus VB misto de passagem. O tatú morreu no fim de 10 dias, A necrópsia revelou: baço volumoso, peri-esplenite e líquido gelatinoso no peritôneo. Os cobaios que serviram para a colheita do material infectuoso, foram de ns. 1.989 a 1.994, que haviam reagido tèrmicamente e apresentado lesões anátomo-patológicas típicas. O sistema nervoso central do tatú foi reinoculado nos cobaios 2.060 e 2.065, os quais não reagiram tèrmicamente.

Antes de terminar, desejávamos, entre outras cousas, assinalar a questão da durabilidade do vírus brasileiro no laboratório.

Em 1939, estudando as propriedades do vírus, dissemos que a menos, 5.º ou 10ºC. era possível conservar o vírus VB, com tôdas as suas propriedades, até 16 dias. Hoje, vamos retificar ligeiramente aquêle número.

Circunstâncias especiais, a naturesa do vírus ou talvez algum pormenor que nos escape ainda, forneceram resultados de excepcional conservação em laborátório do vírus VB. Certo, nem sempre é possível obter o que vamos enumerar.

Em certa época, a crise de cobaios e Rhesus é fator decisivo para nos obrigar a pensar nesta conservação. Na "frigidaire" conseguimos manter o vírus VB com tôdas as propriedades durante 1 ano, 1 mês e 14 dias (409 dias).

*Cobaio n.* 1.424. Morte — A 14 de outubro de 1933.

Reagiu tèrmicamente e as lesões anátomo-patológicas foram típicas.

O s.n.c. foi conservado na "frigidaire" até 28/XI/1934, quando foi reinoculado no *Cobaio n.* 1.493, o qual apresentou o seguinte quadro térmico:

39/39/41, 5/41, 0/40, 1/39/39/ + lesões típicas.

Há ainda alguns dados sôbre os quais desejávamos insistir. Primeiro, é que a ausência freqüente da reação térmica em homens ou animais não implica, no tifo exantemático neotrópico no Brasil, na falta do vírus ativo VB ou dos vírus atenuados VA1 e VA2 no sangue ou nas vísceras. A esplenomegalia, como já temos repetido várias vêzes, em homens ou animais, é sintoma muito mais importante, expressivo e permanente que a reação térmica ou testicular nos machos, para denunciar a presença do vírus brasileiro. Outro ponto a frisar é que as formas clínicas no tifo exantemático neotrópico do Brasil no homem compreendem hoje:

1.º formas inaparentes;
2.º formas benignas;
3.º formas graves;
4.º formas fulminantes.

As formas graves (n. 3) podem se subdividir em:

*a*) forma grave comum;
*b*) forma nervosa ou meningo-encefálica;
*c*) forma anúrica, como mais tarde havemos de descrever minuciosamente.

Na epidemiologia esta questão tem uma grande importância para o diagnóstico e rasteamento dos focos da moléstia.

Um outro ponto que desejamos assinalar é a questão do exantema, que no capítulo *Diagnóstico* nos serviu de base sempre para firmar a presença

do vírus. Podemos hoje, todavia, assinalar que na febre tifóide temos encontrado já casos com erupção petequial em tudo semelhante à do tifo exantemático neotrópico. Isto nos leva a crer que êsse foi um dos motivos pelo qual, durante mais de um século, no interior do país, as duas moléstias foram confundidas. Nesses casos, só as provas de laboratório, hemoculturas e reações de WIDAL e de WEIL-FELIX, inoculação de sangue total em cobaios e *Rhesus*, podem firmar o diagnóstico diferencial. Naturalmente, nos casos de morte, as necropsias revelam hoje, pelo melhor conhecimento do assunto, lesões anatomo-patológicas inconfundíveis e uniformemente apresentadas na maioria absoluta dos casos. Resta ainda assinalar, por último, a possibilidade de insularmos uma vez o vírus VA1 de caso grave da moléstia, em cêrca de 200 observações humanas.

## BIBLIOGRAFIA

AFONSO MOREIRA, JOÃO, PF. e MAGALHÃES, OCTAVIO PF.

Tifo Exantemático em Minas Gerais (4.ª comunicação) — Brasil Médico N. 21 — Ano XLX — Págs. 465-470 — 25 de maio de 1935.

BADER M. N., ANIGSTEIN L.

Investigations on Rickettsial Diseases in Texas.
Texas Reports on Biology and Medicine Vol. I — Number 2 — Summer 1943
Part. 1 and 2 — págs. 105-140.

MAGALHÃES, OCTAVIO.

Tifo exantemático em Minas Gerais — Nota Prévia.
Brasil-Médico — Ano LIV, n. 23, junho de 1940, pág. 393.

MAGALHÃES, OCTAVIO.

Tifo exantemático do Brasil, em Minas Gerais.
Estudos feitos em um foco da doença. Outras observações.
O Hospital, setembro de 1940, volume XVIII, n. 3, págs. 661-684.

MAGALHÃES, OCTAVIO e ROCHA, ADYR.

Tifo exantemático do Brasil, em Minas Gerais 1.
Rev. Brasil. Biol., 1 (3):279-284 — setembro, 1941 — Rio de Janeiro.

MAGALHÃES, OCTAVIO e ROCHA, ADYR.

Tifo exantemático do Brasil em Minas Gerais.
Estudos em foco da moléstia — Moléstia inaparente, benigna e Grave.
Brasil-Médico, Ano LV, n. 47, 22 de novembro de 1941, págs. 773 a 777.

MAGALHÃES, OCTAVIO e ROCHA, ADYR.

Tifo exantemático do Brasil. Papel do cão (C. familiaris) na constituição dos focos da moléstia.
Brasil-Médico, Ano LVI, ns. 30 e 31, 25 de julho de 1942. Sep. págs. 1 a 21.

MAGALHÃES; OCTAVIO.

Tifo exantemático em Minas Gerais. O Vírus; algumas Propriedades.
Ata Médica, Vol. 3 — N. 4 — Págs. 3 a 16, Reimpresso. Abril de 1938. Rio de Janeiro.

# Culturas de bacilos ácido-álcool resistentes isolados de hematófagos infectados em leprosos. Evidências de se tratar do bacilo de Hansen (*)

pelo

Dr. H. C. de Souza-Araujo

(Com uma estampa colorida e 40 figuras em negro no texto)

*Introdução*

Depois de muitos anos de pesquisas bacteriológicas da lepra, iniciadas neste Instituto em começo de 1928, consegui, afinal, uma cultura de bacilo permanentemente ácido-álcool resistente isolado de lepra humana, a amostra "José", descrita em 1942 nestas Memórias (Tomo 37, pág. 29). Nesse mesmo trabalho, em adendo, descrevi uma retrocultura obtida de cobaia inoculada com essa cultura original, a qual tomou o N. 1a, na minha coleção. Repetindo as inoculações dessa cultura "José" (N. 1) em animais de laboratório, obtive uma segunda retrocultura, dum rato do lote 49, inoculado a 21-10-42, na axila direita com 1 cc. de emulsão duma amostra da cultura "José", de dois meses, em LOEWENSTEIN. A 23-2-43, 94.º dia da inoculação, morreu um dos ratos dêsse Lote 49 apresentando hipertrofia dos gânglios inguinais e axilares, cujos exames foram positivos para bacilos a.a.r. A emulsão dêsses gânglios foi semeada em sete tubos de LOEWENSTEIN, que se contaminaram. No mesmo dia 23-2-43 sacrifiquei o outro rato do Lote 49, encontrando na sua axila direita três bôlsas de pus, interessando a musculatura torácica. O esfregaço dêsse pus parecia uma emulsão de cultura pura de bacilos a.a.r. pleomórficos. Semeei êsse pus em seis tubos de LOEWENSTEIN, além doutros meios comuns, e em 5 daqueles germinaram colônias amarelas, circulares, umbilicadas, cujo exame microscópico, feito a 4-3-43,

(*) O essencial dêste trabalho foi comunicado à Academia Nacional de Medicina no dia 18 de novembro de 1943.

* Recebido para publicação a 14 de janeiro e dado à publicidade em fevereiro de 1944.

revelou estarem puras. Três dêsses 5 tubos originais foram conservados intactos até hoje (13/1/44): as colônias têm o aspecto sêco, são umbilicadas, algumas maiores são cerebriformes, côr de ouro.

No caldo glicerinado esta cultura lb produz véu idêntico às Ns. 1 e 1a. Semeadura dêsse véu em agar glicerinado produziu, em seis meses, uma germinação abundante, cobrindo tôda a superfície do meio, sem o fermentar, mostrando uma camada finamente granulosa sobreposta de outra de grânulos maiores, como se vê na figura 6. No fundo do tubo o micróbio germinou sob a forma de tênue camada amarela subindo um centímetro pela parede do tubo. Macroscópica e microscópicamente as três culturas: 1, 1a, e lb são iguais.

Na Colônia Santa Fé (Minas) colhi material, reiteradamente, de dois casos pustulosos idênticos ao daqui (José) que me deu as culturas acima. Um dêsses dois casos era Vita M., moça branca, da qual colhi pus de lesões fechadas, riquíssimo em bacilos de HANSEN, e semeei em cinco séries de tubos (na sua maioria de LOEWENSTEIN), em épocas diferentes, espaçadas até de seis meses, com resultado *absolutamente negativo!* O outro caso, G. Prudencio, homem preto, me forneceu pus de várias lesões fechadas, material êsse também riquíssimo em bacilos, que semeei no ato da colheita e posteriormente. Da coleta de 23-8-43 emulsionei o pus em sôro fisiológico estéril, até 6-9 quando semeei essa emulsão, em LOEWENSTEIN e caldo glicerinado. Após 23 dias de incubação, os tubos de meio de ôvo, asparagina e verde de malaquita estavam estéreis e um tubo de caldo glicerinado apresentava um véu creme, cobrindo o meio, que permanecia límpido. O exame microscópico dêsse véu revelou germinação de bacilos a.a.r. em condições de pureza, mas as suas repicagens permanecem até hoje estéreis.

Depois de muitos anos de insucesso semeando muco nasal de leprósos, tive, afinal, evidências de germinação do bacilo de HANSEN de dois casos. O 1.º, Rubens R. C., homem mestiço de 40 anos, caso L3-N2 com muco nasal de fabulosa riqueza bacilar. No dia 3 de junho de 1943 colhi com alça de platina flambada reiteradas amostras de muco, que fui semeando em vários tubos. Após 14 dias de incubação, um tubo de caldo glicerinado apresentava um véu amarelado, cujo esfregaço foi positivo para bacilos a.a.r., em estado de pureza. O exame do depósito do tubo revelou contaminação por germe cianófilo. Um tubo de LOEWENSTEIN apresentava uma colônia amarela, de meio centímetro de diâmetro, cujo esfregaço foi positivo para bacilos a.a.r. Outras colônias de côr pardacenta provaram ser contaminação. No dia 21-6 (18 dias de incubação) três tubos de LOEWENSTEIN apresentavam germinação sob a forma duma colônia amarela, umbilicada, em

cada tubo, na parte superior do meio. O exame microscópico da maior dessas colônias revelou muitos bacilos a.a.r. entre bactérias cianófilas, as que freqüentemente abundam em material dessa natureza e em pouco tempo dominam a cultura, destruindo os bacilos a.a.r.

Tôdas as repicagens dessas colônias se contaminaram. O outro caso, Mário M., homem de 50 anos, caso L3 com ulceração no septo nasal e muco rico em bacilos. A semeadura dêste material também me forneceu evidência de multiplicação do bacilo de HANSEN sob a forma de véu, sôbre caldo glicerinado, mas a sua passagem para outros meios fracassou. Dum 3.º caso, Angelo L., também homem adulto com lepra L3 e muco nasal muito rico em bacilos, colhi êste material com cureta e fui emulsionando-o nágua destilada estéril, à qual adicionei ácido sulfúrico a 5%, deixando atuar durante mais de meia hora, depois centrifugando e lavando o sedimento duas vêzes em água destilada estéril, sempre seguidas as lavagens de novas centrifugações. O sedimento assim obtido semeei nos meios apropriados, que continuam na estufa.

Fato impressionante é o resultado negativo, até esta data, das repetidas semeaduras de linfa subcutânea de leprosos. Neste material predominam os cocoides ou cocobacílos a. a. r. em estado de pureza e por que não germinam? Só uma vez (caso L. Bassini) tive evidência de multiplicação do germe. O determinismo do isolamento e cultura em meios artificiais do bacilo de HANSEN ainda não está descoberto. Insistirei nas semeaduras de linfas.

### *Resultados das semeaduras de hematófagos*

*Tecnica.* Regra geral costumo mergulhar os hematófagos retirados de leprosos o mais cedo possivel em solutos de soda cáustica a 10 % ou de ácido sulfúrico a 5%, em tubos de hemólise esterilizados, nos quais solutos permanecem pelo menos durante 30 minutos, lavando-os em seguida duas a três vêzes com água destilada esterilizada. Rápida trituração do parasito em microtriturador esmerilhado, com um pouquinho de água destilada como hemolisante. Conforme os casos, semeio êsse triturado *in natura* ou após centrifugações e lavagens. Em se tratando de hematófagos alados, antes de mergulhá-los naqueles solutos, corto-lhes as asas, pernas, antenas e cabeça para que sua desinfecção externa seja mais perfeita.

#### 1 — *Culturas obtidas de Amblyomma cajennense*

A primeira cultura de bacilo a. a. r. que obtive de *A. cajennense* vem descrita nas Memórias (Tomo 37, pág. 101). Era procedente da Co-

lônia Santa Isabel (Minas), mostrou-se nítida, de aspecto verrucoso e côr branco-pérola, após 62 dias de incubação. Essa cultura, de caracteres microscópicos duma constância notável, morreu na 20ª geração (12-8-1943).

Sob o título de "Nótulas sôbre as Culturas" de carrapatos publiquei nestas Memórias (Tomo 37, pág. 418), de setembro de 1942, ligeiros informes sôbre as culturas que hoje têm os números 2, 3, 4 e 5 da minha coleção e que ainda sobrevivem e continuam sendo objeto de estudos.

---

## ESTAMPA 1

### Bacilos ácido-álcool resistentes isolados de Hematófogas

Figuras 1 e 2 — Aspectos macro e microscópico da Cultura N. 2 (amostra "Alcebíades"), isolada de *Amblyomma cajennense*. Meio de Loewenstein com verde de malaquita.

Figuras 3 e 4 — Aspectos macro e microscópico da Cultura N. 3 (amostra "Teixeira"), isolada de *Amblyomma cajennense*. Meio de Loewenstein. As culturas acima são as mais cromogênicas de tôda a série.

Figuras 5 e 6 — Aspectos macro e microscópico da Cultura N. 4 (amostra "Ramtun"), isolada de *Boophilus microplus*. Meio de Loewenstein. Esta cultura é de côr de ouro e a mais pegajosa de tôdas.

Figuras 7 e 8 — Aspectos macro e microscópico da Cultura N. 5 (amostra "Rudan"), isolada de *Boophilus microplus*. Meio de Loewenstein.

Figuras 9 a 14 — Véus sôbre caldo glicerinado a 5%, respectivamente das Culturas Ns. 1 (amostra "José") e 1a (amostra "José", retrocultura de cobaia) e Ns. 2, 3, 4 e 5, correspondentes às figuras 1, 3, 5 e 7.

Figuras 15 e 16 — Aspectos macro e microscópico da Cultura N. 6 (amostra "José Carlos"), isolada de larvas de *Triatoma infestans*. Esta cultura permanece como cocobacilo após a passagem em vários meios.

Figura 17 — Aspecto macroscópico da Cultura N. 7 (amostra "Chagas"), isolada de larvas de *Triatoma infestans*. 2.ª geração de 10 dias, após tratamento da cultura original pelo ácido sulfúrico a 5%.

Figura 18 — Aspecto microscópico da Cultura N. 7, original, após 33 dias de incubação. Além dos granulos metacromáticos característicos da espécie havia, na cultura original, colônias pardacentas de bactérias cianófilas. O tratamento pelo ácido sulfurico eliminou a contaminação e deu-lhe maior exuberância.

Figura 19 — Aspecto microscópico da cultura do desenho 17, purificada pelo ácido sulfúrico (método de Loewenstein).

Figura 20 — Aspecto microscópico dessa mesma cultura, esfregaço corado pelo Dr. Oliveira Castro (método Fontes modificado) para demonstração das várias formas do bacilo, desde o em clava e alfinete até o haltere e cocótrice.

R. Honorio e A. Pugas, del.

**Souza Araujo** — Cultura do bacilo da lepra

*Cultura N.* 2 (Amostra "Alcebíades") — Esta cultura foi obtida em três de nove tubos de meio de LOEWENSTEIN semeados em 8-6-42 com sedimento duma fêmea de *A. cajennense* que sugou, durante 42 horas, sôbre lesão lepromatosa do peito de Alcebiades P., internado no Leprosário São Roque, do Paraná. A germinação, sob a forma de pequenas colônias arredondadas e de côr alaranjada, se mostrou no 21.º dia de incubação, a 37°C.

O intervalo que medeou a retirada do ixódida da pele do doente e a sua semeadura foi de 4 dias. A passagem dessa cultura N. 2 para os meios glicerinados — agar, batata e caldo — alterou a sua pigmentação, tornando-a mais intensa, chegando, na batata, a assumir a côr de cenoura.

Como algumas amostras dessas quatro culturas de carrapatos mostraram entre os bacilos a.a.r. elementos cianófilos, suspeitos de contaminação, resolvi submetê-las a um tratamento pelo método de LOEWENSTEIN.

Emulsão das culturas em soluto a 5% de ácido sulfúrico, no qual permaneciam durante 30 minutos; centrifugação; tratamento do sedimento pelo soluto a 3% de ácido acético, 15 minutos; centrifugação; duas lavagens com água destilada esterilizada seguidas de novas centrifugações. O sedimento final foi, então, semeado no LOEWENSETIN e nos meios glicerinados. Essa prova teve lugar no dia 2 de setembro de 1942 e a 21 do mesmo mês o Dr. MALCOLM H. SOULE, Professor de Bacteriologia da Universidade de Michigan, examinou esfregaços de tôdas essas culturas, achou-as muito interessantes e sugeriu-me que, se precisasse repetir o tratamento purificador, usasse soluto a 4% de ácido sulfúrico e não a 5%, mas a sua impressão é de que não seria mais necessário.

No dia 8 de outubro, cinco semanas depois daquele tratamento pelos dois ácidos, a cultura N. 2 em batata glicerinada apresentava exuberante germinação sôbre metade da superfície do meio, de aspecto uniforme, luzidio, úmido e de côr salmão. Na superfície da água glicerinada havia um anel de cultura circundando a extremidade da batata. A água não se turvou nem apresentava depósito.

*Cultura N.* 3 (Amostra "Teixeira") — Uma fêmea de *A. cajennense* trazida por mim de Caêtê, norte do Paraná, foi aplicada sôbre lesão lepromatosa do abdome de J. Teixeira, teve o seu repasto interrompido 42 horas após por motivo do meu regresso ao Rio, onde, 4 dias depois, foi triturada e semeada em 9 tubos de LOEWENSTEIN. Isto teve lugar a 8 de junho e a 11 de julho (33 dias de incubação a 37° C.) um dos tubos apresentava sete colônias circulares, umbilicadas e de côr alaranjada. No dia 18 de julho verifiquei que eram de bacilos a.a.r. e estavam puras, tendo-as repicado. Como êsse tubo de germinação original foi quebrado pelo fotógrafo J. Pinto, todos

os estudos posteriores com esta cultura foram realizados com amostras da sua segunda geração e das subseqüentes.

Sem razão muito aparente, esta cultura foi também submetida (2-9-42) à ação dos ácidos sulfúrico (5 %) e acético (3%) e após repetidas lavagens e centrifugações foi o seu sedimento semeado nos meios usuais para germes a.a.r. Como de regra, a cultura se tornou mais exuberante. Nunca produziu, porém, no caldo glicerinado, quantidade satisfatória de véu para o fabrico de antígeno, tendo conseguido (7-8-43) apenas 208 ampolas de Leprolina N. 3, que está em experiência alhures.

### 2 — *Culturas obtidas de Boophilus microplus*

*Cultura N.* 4 (Amostra "Ramtun") — Com exemplares adultos de *B. microplus* capturados em gado vaccum do Leprosário S. Roque (Paraná), parasitamos experimentalmente o leproso F. Ramtun. Dois dêsses ixódidas sugaram-no durante 7 dias e foram por nós retirados a 2-6-42 e quatro dias após triturados e o seu sedimento semeado em 8 tubos de LOEWENSTEIN. No 52.º dia de incubação (28-7-42) um dêsses tubos apresentava um início de germinação. No dia 10 de agôsto essa cultura apresentava o aspecto duma colônia circular, do tamanho duma lentilha e cromogênica. Examinada nesse dia mostrou-se pura e constituída de bacilos a.a.r. A repicagem espalhou a cultura no tubo original que, dez dias após, passou a apresentar-se sob a forma duma camada delgada, côr de ouro e com margens subindo as paredes do tubo. Desde o início esta cultura se mostrou bastante pegajosa, característico que nunca perdeu. Passada para os meios glicerinados só uma vez formou véu no caldo glicerinado. Inoculado em animais de laboratório deu origem a uma retrocultura de cobaia, que não sobreviveu por muito tempo.

---

Fig. 1 — Mostrando a Cultura "José' de 25 dias, em meio de Loewenstein, e em 2 (1a) e 3 (1b) as retroculturas de cobaia e rato, tôdas indistinguíveis entre si pela forma, aspecto e côr de gema de ovo.

Figs. 4, 5 e 6 — Representam as mesmas culturas "José" 1, 1a e 1b em agar glicerinado a 5 %. A aparente diferença de forma é devida à diferença de idade entre elas.

Fig. 7 — Aspecto *sui generis* (Actinomyces) da cultura 1b, retrocultura de rato, original, em meio de Loewenstein, tomando nas gerações seguintes a forma granulosa que se vê na fig. 3.

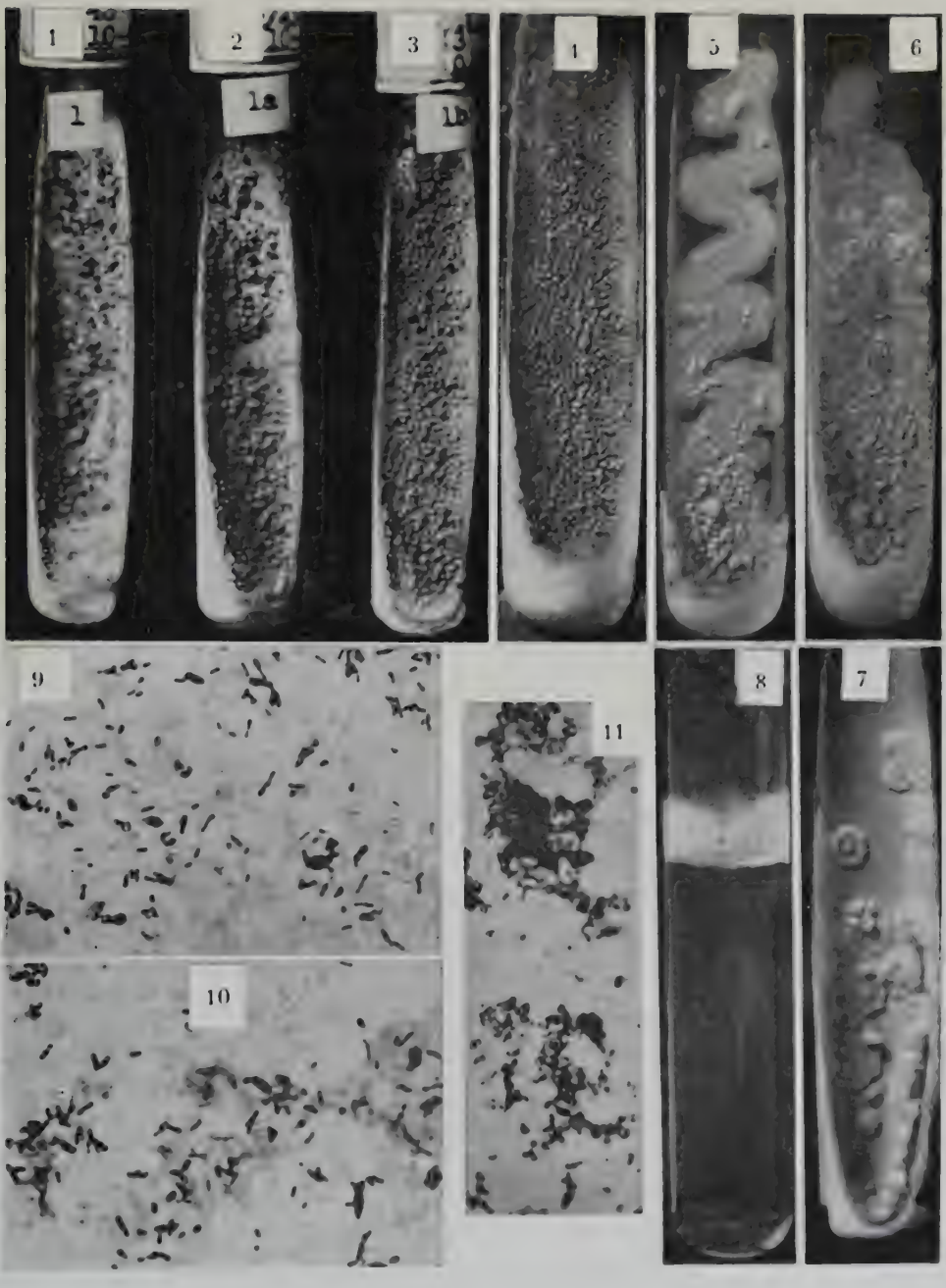
Fig. 8 — Aspecto do véu formado pela cultura "José" em caldo glicerinado a 5 %, sem pigmentar nem turvar o meio. As retroculturas 1a e 1b produzem véus iguais a êsse.

Figs. 9 e 10 — Aspectos microscópicos dos esfregaços da cultura "José" em meio de Loewenstein e do véu do caldo glicerinado.

Fig. 11 — Aspecto cocoide da retrocultura 1b (de rato) original, semelhante à amostra primitiva da cultura "José".

Fotos de *J. Pinto*.

**Culturas de bacilos ácido-álcool resistentes isolados de lepra humana.**




Cultura N.º 1 (amostra "José") isolada diretamente de pus de lesão fechada, do menino José F., de 7 anos de idade. A mesma cultura foi obtida duas vêzes, em outubro e novembro de 1941.

Fotos *J. Pinto*.

*Cultura N.* 5 (Amostra "Rudan") — No dia 17 de julho de 1942 semeei em 15 tubos de Loewenstein sedimento dum *Boophilus microplus* que o Dr. Ruy Noronha Miranda fêz sugar no leproso P. Rudan, internado no Leprosário São Roque (Paraná). No 19.º dia de incubação (5-8) um dêsses tubos apresentava uma cultura sob a forma de delgada camada dum amarelo côr de gema de ôvo, de aspecto úmido e luzidio. No dia 10 de agôsto verifiquei que essa cultura estava pura e era de bacilos a.a.r. pleomórficos. Repiquei-a nessa ocasião.

A 20 de agôsto (34.º dia de incubação) a cultura original se apresentava sob a forma duma delgada camada amarela brilhante, cobrindo tôda a superfície do meio de Loewenstein, camada essa superposta por outra, elevada, constituída por colônias circulares que se fundiam, as quais eram de côr amarelo-alaranjada. A segunda geração desta cultura, com 10 dias de estufa, cobria dois terços da superfície do meio, sob a forma dum inducto amarelo-vivo, de aspecto luzidio e brilhante. No dia 2 de setembro tratei uma amostra dessa cultura pelos ácidos sulfúrico e acético, com resultado idêntico às outras.

Esta cultura N. 5 (Rudan) produziu, *ab initio*, véu sôbre o caldo glicerinado em tubos e balões, com tal exuberância que com êle preparei várias partidas de antígeno (Leprolina S-A. 5), o qual está sendo aplicado *larga manu*, como teste cutâneo comparativamente com a Lepromina e também como agente terapêutico. Como teste cutâneo o Dr. José Mariano já publicou (Acta Médica, out.-dez. 1943) os resultados do seu emprêgo em 198 internados da Colônia Santa Fé e tem em elaboração trabalho muito mais completo sôbre testes cutâneos feitos com as cinco leprolinas do meu fabrico e com a sua própria Lepromina.

*Estudo destas culturas no estrangeiro*

Desejando tornar as minhas culturas da lepra conhecidas e interessando-me sobretudo que com elas colegas estrangeiros façam estudos experimentais, no dia 15 de janeiro de 1943 remeti essas cinco culturas e mais a N. 1a (recobrada de cobaia inoculada com a cultura N. 1) às seguintes instituições dos Estados Unidos: *Louisiana Sate University*, New Orleans, ao Dr. George W. McCoy, professor de Leprologia, e à *University of Michigan*, Ann Arbor, ao Dr. Malcolm H. Soule, professor de Bacteriologia. A ambos êsses ilustres professores e aos seus colaboradores solicitei fizessem estudos com as aludidas culturas e que sôbre elas publicassem tudo quanto lhes parecesse certo. Na mesma ocasião remeti, também por via aérea, essas culturas à *American Type Culture Collection*, da *Georgetown University*

*Medical School*, de Washington, D. C., cujo Zelador, Dr. MARIO MOLLARI, M. D., escreveu-me a seguinte carta datada de 26 de janeiro de 1943:

> *"We have received the six "Leprosy Cultures" which you so kindly forwarded to us and I wish to express our appreciation for your cooperation in depositing them in the Collection.*
>
> *We have entered these in the permanent collection and will maintain them, to the best of our ability, in both the viable and the frozen and dried state; and will enter them in the forthcoming edition of our catalogue.* Etc."

Posteriormente remeti essas culturas ao Instituto de Leprologia "Lleras Acosta", de Bogotá (Colômbia), a pedido do seu diretor DR. JOSÉ IGNACIO CHALA e ao Instituto de Higiene da Universidade de São Paulo, a pedido do DR. JOSÉ MARIA GOMES. Espero que êsses colegas utilizem as minhas culturas para estudos experimentais, em pesquisas isoladas ou comparativamente com algumas das culturas clássicas de lepra, e que dêem publicidade aos resultados obtidos.

### 3 — *Culturas obtidas de Triatomídeos*

Nestas Memórias, de junho de 1943 (Tomo 38, pp. 457-462) dei as primeiras notícias sôbre culturas de bacilos a.a.r. de Triatomídeos infectados em leprosos. Dessas três primeiras evidências de multiplicação dos bacilos dêsses hematófagos sòmente uma, a

*Cultura N.* 6 (Amostra "José Carlos"), sobreviveu. De larvas de *Triatoma infestans* criadas no meu laboratório de Manguinhos, e aplicadas por mim, (13-2-43) na presença dos Drs. SOUZA CAMPOS, SOUZA LIMA e JOIR FONTE, sôbre lesão lepromatosa da coxa direita de José Carlos da G., obtive, por aspiração com pipetas capilares, conteúdo intestinal de três das sete que o sugaram e semeei, *in natura*, em vários tubos de LOEWENSTEIN. Apesar do exame direto do material dessas larvas ter sido negativo, após mês e meio de incubação, um tubo de LOEWENSTEIN mostrou indício de germinação que, no 56.º dia de incubação apresentou pequeninas colônias arredondadas e de côr amarela, em número de onze. O 1.º exame microscópico dessa cultura, feito a 8 de abril, revelou tratar-se de cocobacilos a.a.r. em estado de pureza. Repicagens dêsse dia foram examinados a 22-4 confirmando essa morfologia cocóide, fortemente a.a.r. A passagem dessa cultura pelos meios glicerinados produziu formas bacilares efêmeras, voltando à primitiva forma cocóide no LOEWENSTEIN, como se vê na figura 16 da

estampa colorida que ilustra êste trabalho. No caldo glicerinado êsse germe não produziu véu apesar de reiteradas tentativas. Por êste motivo e pela sua forma cocóide estive quase decidido a desprezar esta cultura, mas comparando-a com as microfotografias de linfas de outros casos de lepra lepromatosa e dum caso tuberculóide (figs. 36 e 37) me convenci que a sua morfologia é idêntica, senão igual. Há ainda outro argumento para continuar estudando esta cultura e não descartá-la como má: é a opinião de E. Marchoux, professor do Instituto Pasteur de Paris, o cientista europeu que tem maior experiência sôbre a etiopatologia comparada das lepras humana e murina que assevera, em erudito artigo de 1931, estar convencido de que há pelo menos seis variedades de bacilos na lepra humana e que pelo menos uma é proveniente do rato.

Pelo Prof. Olympio da Fonseca filho remeti uma amostra desta cultura N. 6 ao Dr. Malcolm H. Soule, professor de Bacteriologia da Universidade de Michigan, para estudo, o qual em carta de 2 de novembro de 1943 confirma a sua morfologia de *"coccobacillus"*. Aqui no Rio, no dia 7 de janeiro de 1944 o Dr. Soule reexaminou essa cultura, examinou e conversou com o doente que a forneceu, assim como examinou os doentes "José" e "Chagas", dos quais isolei as amostras N. 1 e N. 7. Neste doente Chagas o Dr. Soule assistiu a aplicação de larvas de *T. infestans*, duas das quais se encheram e foram por mim tratadas pela soda, em Manguinhos, onde êle assistiu às semeaduras e viu esfregaços positivos de outra larva que na véspera sugara sôbre um leproma de Oliveira.

O que não me impressiona muito bem é o fato da raridade do isolamento de tais bacilos em contraste com a facilidade com que os barbeiros sugam os doentes.

*Cultura N. 7* (Amostra "Chagas") — Com material do doente F. Chagas, homem branco de 62 anos, caso L3, recentemente chegado do Cea-

---

Fig. 12 — Aspecto microscópico da Cultura N.º 2 (amostra "Alcebiades"), em Loewenstein. Elementos pleomórficos.

Fig. 13 — Aspecto macroscópico da Cultura N.º 2 em agar glicerinado.

Figs. 14 e 15 — Aspectos macro e microscópicos da Cultura N.º 2 em batata glicerinada, de 10 dias. Não só a cultura se tornou mais exuberante como os germes apresentam-se como bacilos homogêneos grandes e fortemente ácido-álcool resistentes.

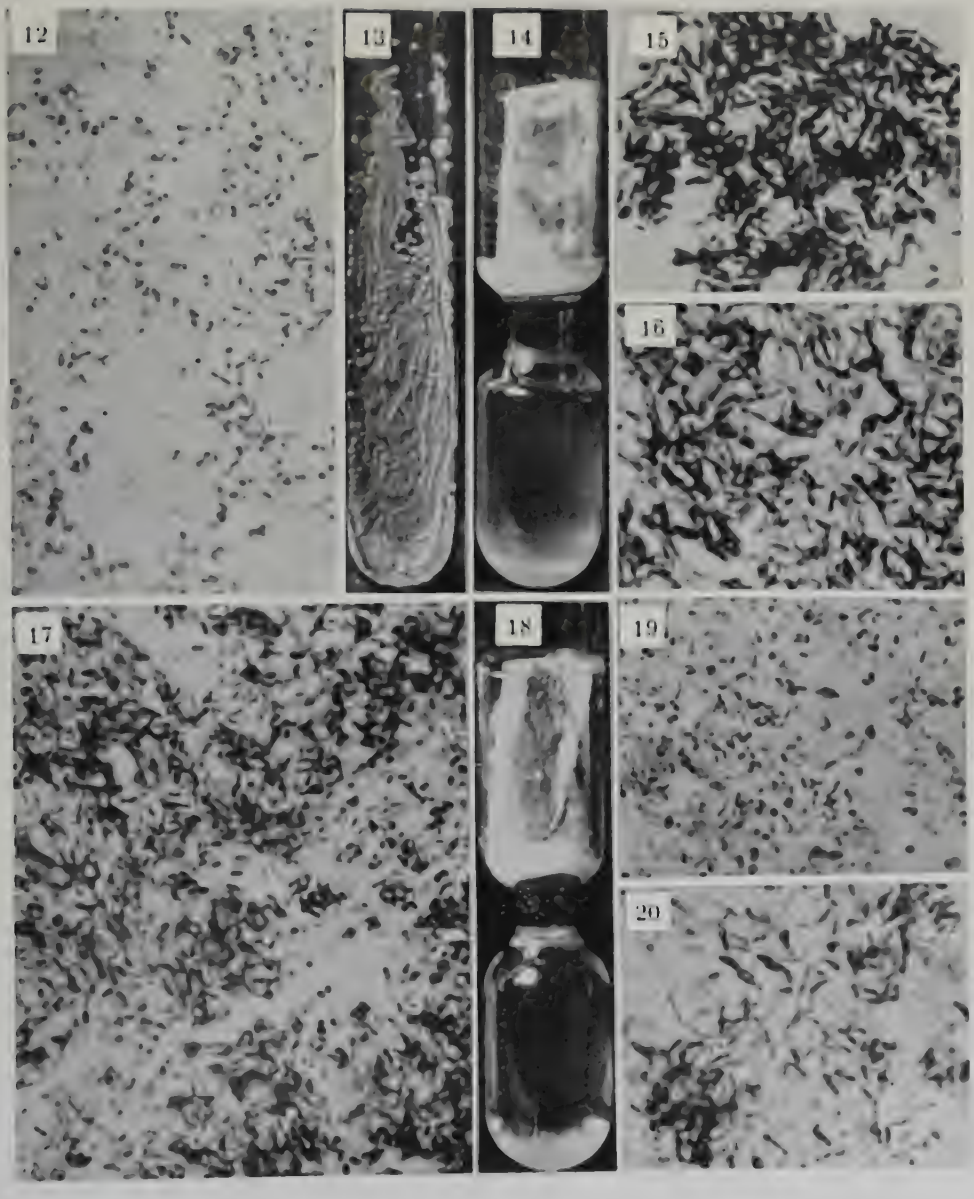
Fig. 16 — Aspecto microscópico do véu da mesma Cultura N.º 2.

Figs. 17 e 18 — Aspectos micro e macroscópico da Cultura N.º 3 (amostra "Teixeira"), em batata glicerinada.

Fig. 19 — Aspecto microscópico da Cultura N.º 3 em Loewenstein.

Fig. 20 — Aspecto microscópico do véu da Cultura N.º 3: bacilos grandes, homogêneos e fortemente ácido-álcool resistentes.

As microfotos 15, 16 e 20 são em maior aumento (entre 1.600 e 1.800 segundo *J. Pinto*).




Culturas de bacilos ácido-álcool resistentes isolados de *A. cajennense*.

Fotos *J. Pinto*.

rá, realizei as experiências 17.ª, 18.ª e 19.ª com barbeiros, antes de obter a cultura N. 7, que passo a descrever. No dia 14 de setembro de 1943 apliquei sôbre placa lepromatosa do flanco esquerdo dêsse doente 5 ninfas e 5 larvas de *T. infestans* que me foram fornecidas pelo Dr. SIMÕES. Uma ninfa e três larvas sugaram-no até à repleção. 24 horas após tratei-as pela soda, em tubos individuais, triturei-as e o triturado de cada uma foi semeado em 10 tubos de meios diversos, na maioria de LOEWENSTEIN. No dia 4 de novembro (51.º de incubação), um tubo de caldo glicerinado apresentava um véu branco que foi examinado pelo Dr. LUIS PRADO BARRIENTOS, professor de Parasitologia da Universidade San Andrés de La Paz, tendo verificado tratar-se de cultura de bacilos a.a.r. Os demais tubos continuaram estéreis. No dia 18-9 apliquei de novo nesse doente uma ninfa e 2 larvas daquele triatoma, de igual procedência. Tôdas três sugaram-no e 48 horas após (20-9) foram tratadas pela soda, trituradas e semeadas. Dos 7 tubos de LOEWENSTEIN semeados com o triturado da lavra N. 1, dois apresentavam, no 33.º dia de incubação (23-10-43) germinação em colônias amarelas características, que serão descritas abaixo. No dia 28-9-43 apliquei de novo na placa lepromatosa do flanco esquerdo de Chagas uma ninfa e uma larva de *T. infestans* que estavam famintas, as quais sugaram-no até à defecação, o que indica repleção. No dia 1 de outubro (74 horas após) aspirei com pipeta estirada o conteúdo intestinal da ninfa acima, que continha ainda bastante sangue, e semeei êsse conteúdo ligeiramente diluído em água destilada, em 6 tubos de LOEWNSTEIN e um de caldo glicerinado. No 27.º dia de incubação (28-10) o tubo de caldo apresentava tênue véu esbranquiçado, sem turbidez do meio. O esfregaço dêsse véu comprovou a multiplicação do bacilo de HANSEN. Semeado êsse caldo noutros meios o resultado foi negativo.

A cultura que passou a ter o N. 7 foi obtida do seguinte modo: No 33.º dia de incubação, dois tubos de LOEWENSTEIN semeados a 20-9-43 com triturado duma larva apresentava germinação: um dêles tinha uma colônia

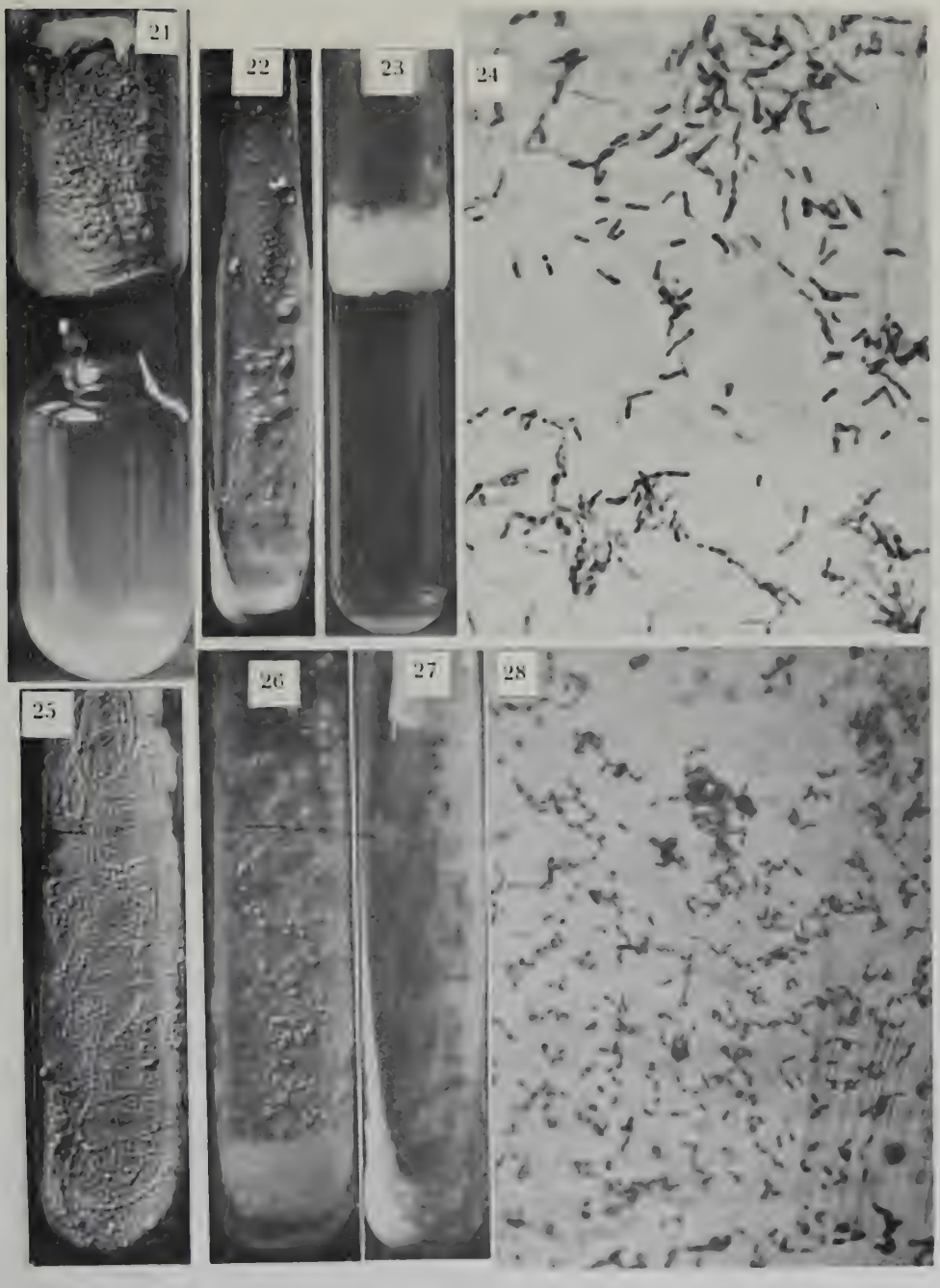
Figuras 21 e 22 — Aspectos macroscópicos da Cultura N.º 4 (amostra "Ramtun") procedente de *Boophilus microplus* infectado no leproso F. Ramtun, do Paraná, em batata glicerinada e em meio de Loewenstein. Côr de ouro. Muito pegajosa.

Figuras 23 e 24 — Aspectos macro e microscópico da mesma Cultura N.º 4 em caldo glicerinado, formando véu amarelo, sem turvar o meio, e esfregaço do referido véu, mostrando bacilos homogêneos e granulosos, todos a.a.r.

Figuras 25 e 26 — Aspectos macroscópicos da Cultura N.º 5 (amostra "Rudan"), isolada de *Boophilus microplus* infectado no leproso P. Rudan, do Paraná, em agar glicerinado. Com 2 1/2 meses apresenta delgada camada amarelo-ouro, finamente granulosa, cobrindo tôda a superfície do meio. A mais granulosa tem 7 meses.

Figuras 27 e 28 — Aspectos macro e microscópico da mesma Cultura N.º 5 em meio de Loewenstein: camada delgada, aspecto úmido, côr alaranjada; no esfregaço há elementos homogêneos e granulosos, todos a.a.r.

Fotos de *J. Pinto*.




Culturas de bacilos ácido-álcool resistentes isolados de *Boophilus microplus*.

amarela, verrucosa, no fundo do meio, cujo esfregaço revelou bacilos a.a.r. em estado de pureza; outra colônia idêntica, menor, no meio duma grande colônia branco-pardacenta de contaminação: a mesma bactéria cianófila frequentemente encontrada nas semeaduras de material leproso e que em pouco tempo domina a cultura do germe ácido-resistente. A 1.ª colônia foi por mim pescada e repicada no mesmo dia 23 de outubro em 3 tubos de LOEWENSTEIN, 2 de agar glicerinado e 1 de caldo glicerinado. No dia 25, 48 horas após, o Prof. BARRIENTOS examinou a cultura original que apresentava massas de bacilos a.a.r. em extensos campos de bactéria cianófila. As repicagens do dia 23 apresentavam o seguinte aspecto: Nos 3 tubos de LOEWENSTEIN ligeira camada amarelada, no centro do meio, cujo esfregaço dum tubo aparentava estar pura. Os meios glicerinados nada apresentavam de interêsse. O 2.º tubo da cultura original apresentava, a 25-10, uma colônia amarela que pesquei e coloquei sôbre agar glicerinado donde fui retirando sementeira para novos meios. O esfregaço dessa colônia não diferia do da anterior (1.º tubo): bacilos a.a.r. com aspecto de pureza. O exame doutra colônia menor, existente no meio duma colônia maior e de côr pardacenta, revelou agrupamentos arredondados de bacilos a.a.r. e outros sòmente de grânulos a.a.r. sôbre extenso fundo azul, de bactérias de contaminação, que parecem destruir, progressivamente, os germes a.a.r. O esfregaço dum tubo da segunda geração revelou maior contaminação pela mesma bactéria.

*Purificação da Cultura N. 7 pelo ácido sulfúrico e pela soda.*

No dia 28-10-43 tomei dois tubos da 2.ª geração desta cultura em LOEWENSTEIN e adicionei em cada um três cc de soluto a 5 % de ácido sulfúrico, emulsionando as culturas nesse soluto, deitando os tubos para que o ácido agisse sôbre as culturas durante 30 minutos, após o que passei cada

---

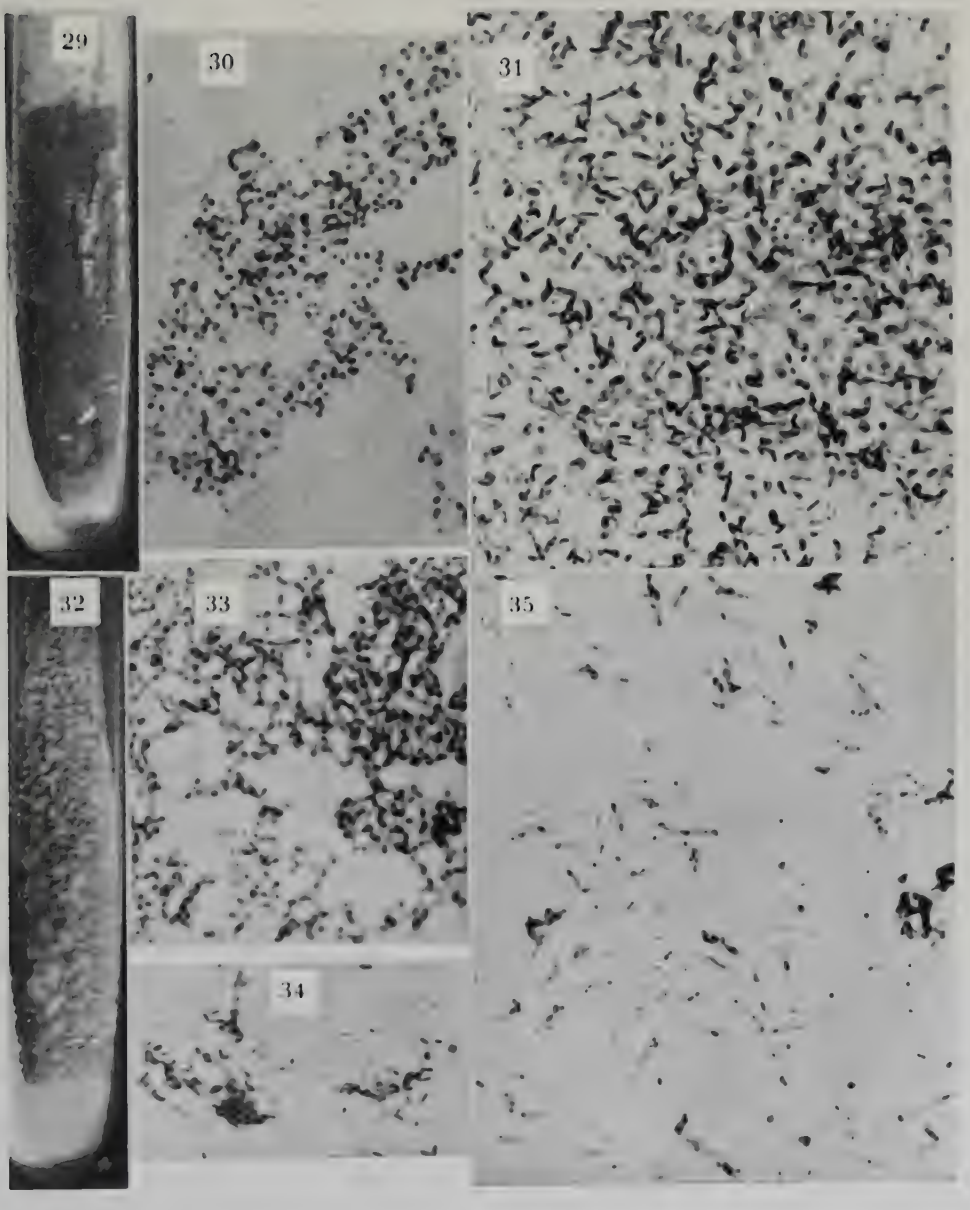
Figs. 29 e 30 — Aspecto macro e microscópico da Cultura N.º 6 (amostra "José Carlos"), isolada de *T. infestans* alimentado em lesão ativa do leproso J. Carlos da G. Tubo original. Côr de gema de ôvo. O esfregaço mostra uma cultura pura *ab initio*, de elementos cocoides a.a.r.

Fig. 31 — Aspecto microscópico da mesma Cultura N.º 6 adaptada em agar glicerinado. O esfregaço mostra a predominância de elementos bacilares.

Figs. 32 e 33 — Aspectos macro e microscópicos da Cultura N.º 7 (amostra "Chagas") isolada de *T. infestans* alimentado em lesão ativa do leproso F. Chagas A., 2.ª geração em Loewenstein. Côr amarela. Os elementos microscópicos afetam a forma cocoide. Na fig. 34 afetam a forma bacilar após o tratamento da cultura original pelo ácido sulfúrico a 5 %.

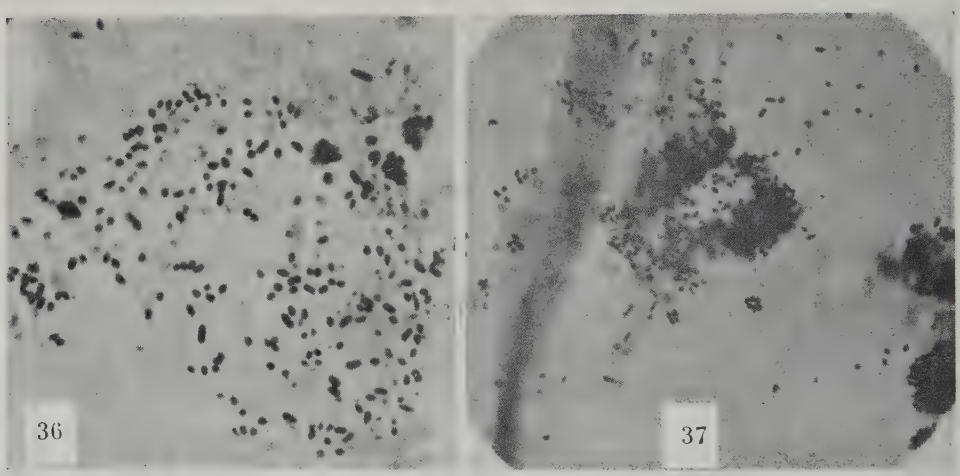
Fig. 35 — Esfregaço da cultura de 3.ª geração corado pelo método Fontes modificado por Oliveira Castro: os bacilos a.a. e acetona resistentes afetam as variadas formas granulares. Esta figura se superpõe à de Neisser, do bacilo de Hansen, publicada em 1881, na qual se vêem os bacilos granulosos bipolares (haltères), unipolares, afetando a forma de alfinetes, com um grande nódulo no centro ou em cocótrices, com 4 e 5 grânulos metacromáticos uniformemente espalhados no bacilo.

Fotos de *J. Pinto*.




Culturas de bacilos ácido-álcool resistentes isolados de *Triatoma infestans*.

emulsão para um tubo de centrifugação ao qual adicionei 5 cc de água destilada esterilizada e centrifuquei durante 20 minutos. Os sedimentos dêsses dois centrifugados foram lavados duas vezes em água destilada e novamente centrifugados e por fim semeados, separadamente, em meio de LOEWENSTEIN (4 tubos), agar glicerinado e caldo glicerinado. Êsses tubos foram levados á estufa a 37° C juntamente com os dois tubos sementeiras, nos quais ainda restava um pouco das emulsões das culturas em ácido sulfúrico. O esfregaço do centrifugado acima com bacilos a. a. r. com




Fotos de *J. Pinto*.

Figura 36 — Esfregaço de linfa subcutânea dum caso (L.B.) lepromatoso, no período de eclosão. Na microfotografia são vistos raros bacilos curtos, a maioria dos elementos são cocóides ou cocobacilos ácido-álcool resistentes.

Figura 37 — Esfregaço de linfa subcutânea duma mácula acrômica da região lombar de L. Pereira, caso de lepra tuberculóide. Na microfoto predominam os cocóides ou cocobacilos e mórulas ácido-álcool resistentes. Linfas de dois casos de tipos clínicos considerados extremos por alguns autores (lepra lepromatosa e lepra tuberculóide) apresentam germes de idêntica morfologia e iguais aos da Cultura N.° 6 (Amostra José Carlos), isolada de larvas de *Triatoma infestans* alimentadas em lesão lepromatosa; comparar com a fig. 30.

granulações violeta (V. fig. 19, Estampa 1) mostra que o ácido não afetou a estrutura bacilar. No dia 4 de novembro (6° dia da semeadura) os 4 tubos de LOEWENSTEIN semeados com os centrifugados de 28-10 apresentavam exuberante germinação cobrindo tôda a superfície do meio, com uma camada de colônias amarelas, confluentes, redondas como cabeças de alfinetes. (V. fig. 18, Estampa 1). O esfregaço de uma destas colônias corado pelo ZIEHL-NEELSEN revelou pureza de bacilos a. a. r. e outro corado pelo método FONTES, modificado por OLIVEIRA CASTRO (Fig. 20, Estampa 1) mostra que os bacilos são ácido-álcool-acetona resistentes e são todos gra-

nulosos. Os meios glicerinados pareciam estéreis. Os dois tubos sementeiras, devido á presença do ácido sulfúrico, não mostraram mais nenhum indício de germinação.

No mesmo dia 28-10 adicionei soluto a 10 % de soda cáustica num tubo de LOEWENSTEIN com a cultura de segunda geração e a sua emulsão sofreu igual tratamento ao descrito acima. O centrifugado desta cultura foi semeado em dois tubos de LOEWENSTEIN que, a 4 de novembro (6º dia) apresentavam cêrca de 20 pequenas colônias arredondadas, salientes, amarelas e espalhadas pela superfície do meio. A sua exuberância é conside-

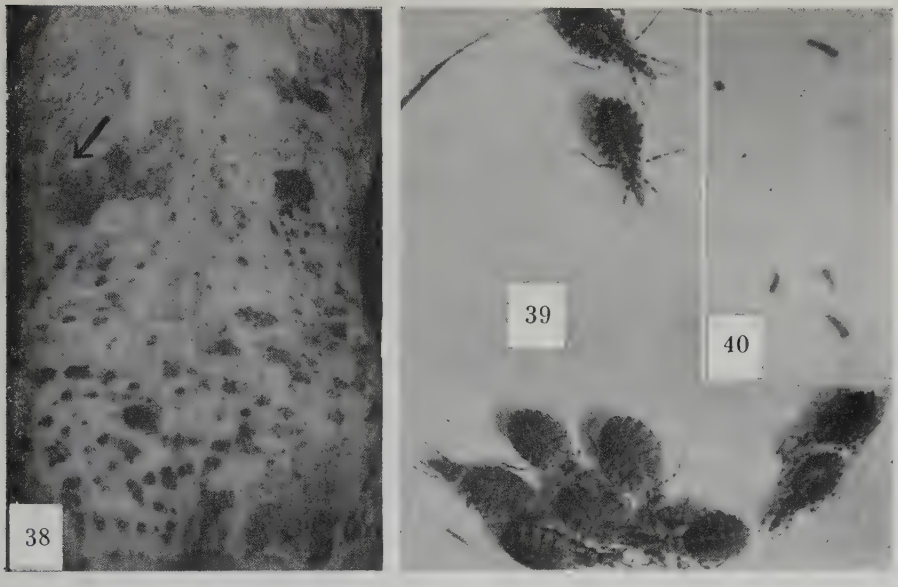



Figura 38 — A flecha indica uma lesão lepromatosa de F. Chagas onde se infectaram as larvas de *T. infestans* das quais isolei a Cultura N.º 7 (amostra Chagas) de bacilos ácido-álcool resistentes.

Figura 39 — Das 10 larvas (4.ª fase) de *T. infestans* colocadas sôbre o dorso de F. Chagas, nove sugaram-no até à repleção e se infectaram.

Figura 40 — A microfotografia 40 representa um esfregaço de triturado de larva dêsse lote, com quatro bacilos a.a.r. Êstes elementos eram abundantes, porém muito espalhados, não tendo sido possível obter um campo mais rico.

Fotos de *J. Pinto*.

ràvelmente menor (1/10) em relação às semeaduras dos centrifugados tratados pelo ácido sulfúrico. O esfregaço dêsse centrifugado mostra número menor de bacilos a.a.r. e êstes mesmos com aspectos de carcomidos ou vacuolizados. Parece que a soda degradou os bacilos.

Em conclusão, tanto o ácido sulfúrico como a soda se mostraram bactericidas para os germes de contaminação sem afetar a vitalidade dos ba-

cilos a. a. r. Esta Cultura Nº 7 está germinando satisfatòriamente nos meios glicerinados (agar e batata) sem formar, por enquanto, véu no caldo glicerinado.

Estas três culturas de bacilos a. a. r. indistinguíveis do de HANSEN obtidas de lesões lepromatosas de um mesmo doente, em ocasiões diferentes e por meio dum hematófago, me convenceram que se trata realmente do bacilo da lepra e não de qualquer outro simbiótico ou de contaminação ambiente.

No dia 7 de janeiro de 1944 fiz uma demonstração para o Prof. SOULE aplicando larvas de *T. infestans* nas lesões da região sacra direita do paciente Chagas, tendo duas delas sugado (Experiência 31ª.). Ainda na presença do Dr. SOULE tratei, em Manguinhos, essas larvas pela soda, triturei e semeei o seu triturado em LOEWENSTEIN, etc. Estas semeaduras estão na estufa. Dada a melhoria das lesões do paciente, em consequência do tratamento, com redução de bacilos na sua linfa, é improvável que desta vez se consiga nova cultura.

### 4 — *Propriedades biológicas das culturas de lepra.*

Por artifícios de técnica o Dr. OLIVEIRA CASTRO, meu ilustre colega do I. O. Cruz, provou que tôdas as sete culturas descritas neste artigo são ácido-álcool-acetona resistentes e que todos êsses bacilos isolados de material leproso são granulosos, e cujas granulações metacromáticas afetam as formas e disposições tão bem descritas em 1881 por A. NEISSER no bacilo de HANSEN, e posteriormente foram confirmadas por LUTZ, UNNA, MEIROWSKY e PALDROCK. Quanto às outras propriedades biológicas descritas a seguir, essas culturas diferem entre si, até certo grau, não se justificando porque algumas delas não produzem véus nos meios líquidos adequados. Quanto à parte experimental, referente às inoculações em animais de laboratório, só mais tarde poderei esclarecer certas incógnitas.

#### *Verificação da motilidade dos bacilos*

Num só dia (12 de novembro de 1943) preparei emulsões, em água destilada esterilizada, de mínimas porções de bacilos, retiradas com alça de platina, das sete culturas originais e das duas retro-culturas, examinando-as em gôtas pendentes sob lamínulas colocadas sôbre lâminas escavadas.

A verificação foi feita de uma em uma, progressivamente na sua seriação, usando emulsões tão frescas quanto possível. A lâmina escavada foi colocada sôbre uma platina aquecedora, com termómetro, adaptada no dispositivo *charriot* e o exame feito com grande aumento.

Da cultura N. 1 e retroculturas 1a e 1b usei germinações de 42 dias, em meio de LOEWENSTEIN; da cultura N. 2 usei amostras de 27 dias em batata glicerinada, e 130 dias, em caldo glicerinado (esta não emulsionada nágua); da cultura N. 3, amostra de 27 dias, em batata glicerinada; da cultura N. 4, germinação de 42 dias em meio de LOEWENSTEIN; da cultura N. 5, amostra de 90 dias, em agar glicerinado; da cultura N. 6, amostra de 64 dias, em meio de LOEWENSTEIN, e da cultura N. 7, segunda geração de 15 dias, também em meio de LOEWENSTEIN. Tôdas as dez amostras de emulsões foram examinadas ao microscópio primeiramente à temperatura do laboratório e depois entre 30.° e 40.° C., mediante progressivo aquecimento da platina.

À temperatura ambiente tôdas as emulsões mostraram um movimento browniano pouco intenso, que ia aumentando ràpidamente a partir de 35.° até 40.° C. A partir dos 40.° C. os movimentos de rotação, reviravolta e oscilação iam diminuindo, naturalmente pela dessecação da emulsão. Algumas amostras, sobretudo as culturas Ns. 1a e 5, deram-me a impressão de motilidade vital, — de translação, — tal a sua atividade. Após cuidadoso exame os Drs. A. GODOY e A. MACHADO concluiram pela negatividade.

Em conclusão, tôdas essas culturas, em diferentes meios e de várias idades, são idênticas, revelando apenas movimento browniano, mais ou menos intenso segundo a temperatura a que foram submetidas.

Consegui fazer todos êsses exames num só dia e sob idênticas condições graças à valiosa colaboração do Professor LUIS PRADO BARRIENTOS (da Universidade San Andrès, de La Paz) e do Dr. VICTOR CALDARERA, do Paraguai, que na ocasião faziam estágio no meu laboratório e a quem apresento os meus agradecimentos por êsse e outros favores.

*Produção de Pigmentos*

A grande maioria dos bacilos ácido-álcool resistentes isolados de material de lepra humana tem a propriedade de produzir compostos corados, coloridos, conhecidos por pigmentos. De tôdas as culturas que obtive da lepra humana, semeando triturados de hematófagos infectados em leprosos, assim como a obtida diretamente semeando pus de lesão humana, fechada, sòmente uma, a isolada de *A. cajennense* da Colônia Santa Isabel, era creme; tôdas as demais são pigmentadas, cuja côr varia do amarelo-ouro até ao amarelho-laranja ou abóbora. As culturas 2 e 3 são as mais pigmentadas, tomando na batata glicerinada ou no LOEWENSTEIN, quando velhas, a côr de cenoura. Tais pigmentos permanecem confinados às células bacterianas, sem influenciar na côr ou limpidez do meio (caldo glicerinado), salvo ligeira exceção para a Cultura 3, que torna êsse meio ligeiramente pardacento, sem

turvá-lo. Originàriamente tôdas as sete culturas aqui descritas foram obtidas no meio de LOEWENSTEIN e a sua pigmentação vai aumentando até certo ponto com a sucessão das suas gerações nesse meio. Transplantadas para meios glicerinados, tais como o agar, a batata e o caldo, tôdas elas, exceto as de Ns. 2 e 3, perdem um pouco na intensidade da sua côr.

Êsses pigmentos são insolúveis nágua; faltava verificar a ação do álcool absoluto, da acetona, do éter e do clorofôrmio sôbre êles, provas que realizei recentemente. Para cada amostra das nove culturas examinadas preparei uma série de quatro tubos de hemólise, esterilizados, cada um com dois centímetros cúbicos do respectivo reagente, nesta ordem: álcool-absoluto, acetona, éter e clorofórmio. Em cada tubo coloquei uma alça da cultura a examinar, escolhendo a amostra mais pigmentada da coleção, sem levar em consideração a sua idade, e emulsionando-a o melhor possível.

A leitura foi feita três horas após, com os seguintes resultados:

A cultura 1 deu apenas no álcool absoluto uma tênue nuança amarelada; a cultura 1a teve o seu pigmento dissolvido no álcool, acetona e éter, que tomaram uma côr amarelada; a cultura 1b corou de amarelo um pouco mais vivo o éter e o clorofórmio; as culturas 2 e 3, as mais cromogênicas de tôdas, não alteraram os quatro reagentes; a cultura 4 corou de tenuíssimo amarelo os quatro reagentes, com mais intensidade a acetona e o clorofórmio; a cultura 5 corou uniformemente, de um amarelo claríssimo, todos os quatro reagentes; a cultura 6 corou apenas o éter, e finalmente a cultura 7 corou o álcool e o éter e turvou ligeiramente o clorofórmio. Por êstes resultados parece tratar-se de culturas diferentes, mas diferentes eram as suas idades e os meios em que tinham germinado. Numa prova mais rigorosa é necessário colocá-las em igualdade de condições.

*A ação de Penicilina sôbre os bacilos ácido-álcool resistentes*

Em recente conferência feita em Manguinhos por ARÊA LEÃO, sôbre a descoberta, fabrico e emprêgo terapêutico da *Penicilina*, êsse ilustre colega declarou que êste produto tem ação eletiva sôbre as bactérias GRAM positivas, além de outras. Essa afirmativa me levou a verificar se o aludido produto micológico tinha ação impediente sôbre a germinação de bacilos ácido-álcool resistentes isolados da lepra, com o fito de experimentá-lo na reação leprótica, que até hoje não tem um tratamento eficaz.

O químico HUMBERTO T. CARDOSO, colaborador do Dr. ARÊA LEÃO nos estudos da *Penicilina* no Instituto Oswaldo Cruz, teve a bondade de ceder-me cêrca de dez centímetros cúbicos dum soluto de *Penicilina* em sal

de bário, filtrado assépticamente e com o poder impediente de 1:80,000 em relação ao *Staphylococcus aureus*. Fiz atuar êsse soluto em cinco culturas de lepra, sendo duas da minha coleção original (Ns. 1 e 1a) e três da coleção internacional (KRAL, 260 e 365) nas doses de 0,1, 0,5 e 1,0 cc adicionadas em 10 cc de caldo glicerinado a 5%. Em cada tubo semeei uma alça de cultura, e para cada cultura utilizei uma série de quatro tubos, os três primeiros com a *Penicilina* nas doses acima referidas e o último como testemunha. Feitas as semeaduras, com a técnica habitual, foram as culturas colocadas na estufa a 37°C, onde permaneceram de 27 de novembro a 2 de dezembro últimos.

Os resultados foram os seguintes:

As culturas 1 e 1a germinaram igualmente em todos os quatro tubos, produzindo o véu amarelo característico, sem turvar o meio. As culturas KRAL e 260 germinaram em todos os quatro tubos das respectivas séries, formando véus e sem turvar o meio, sendo que a KRAL com notável exuberância. A série da cultura 365 (do *National Health Institute* de Washington) contaminou-se com *Aspergillus niger*, ficando pois prejudicada a prova. Por êstes resultados pode-se concluir que a *Penicilina* não é *impediente* e *ipso facto* não espero que seja bactericida para os bacilos da lepra no corpo humano.

*Ação do Neurital sôbre as culturas de bacilos ácido-álcool resistentes.*

O Dr. F. MONTEIRO, médico interno do Hospital-Colônia de Curupaity, recentemente chamou-me a atenção sôbre um novo medicamento, o *Neurital*, que, segundo êle (experiência em 73 pacientes) estava dando excelentes resultados no tratamento das neuralgias em leprosos. Enfermos retidos no leito há semanas, diz êle, por motivo de terríveis polineurites extremamente dolorosas, com duas injeções apenas dêsse produto ficaram "curados dêsses males". Antes que êle desse publicidade à sua nota preliminar sôbre o assunto, sugeri-lhe que reexaminasse (já haviam decorrido dois e mais meses) todos os seus 73 pacientes, para se assegurar se êles não haviam tido reincidências dos seus males.

A pedido do Sr. RAUL WERNECK ALVES, técnico do Laboratório Tonka, fabricante daquele produto, resolvi experimentá-lo pessoalmente nalguns doentes e remeti 400 ampolas do produto ao Dr. JOSÉ MARIANO, diretor da Colônia Santa Fé (Minas), para uma experiência em maior escala. O primeiro relatório dêste colega é animador, porém diz êle que o aludido produto é mais eficaz quando misturado ao sôro glicosado saturado e injetado

por via intravenosa. Dêsse modo estava beneficiando também os doentes com reação leprótica.

A respeito da ação da *Cumarina* sôbre o sistema nervoso central o Professor FRANKLIN MOURA CAMPOS e colaboradores já publicaram alguns trabalhos experimentais, cujas conclusões autorizam a admitir-se a sua influência benéfica nas neuralgias leprosas.

À vista dêstes antecedentes resolvi verificar se o *Neurital* tinha ou não ação impediente sôbre as culturas de bacilos isolados de material leproso. O *Neurital* é um soluto a 3 o/oo, em água destilada, dos ácidos cumáricos extraídos das Favas Tonca, que são as sementes dos frutos duma grande árvore amazônica, o Cumarú, ou *Dipteryx odorata* Willd. (*Leguminosae Papilionatae*) segundo se vê no *Arboretum amazonicum* (fig. 13) de J. HUBER, publicado pelo Museu Goeldi, do Pará.

*Experiência pessoal.*

Em tubos de ensaio com 10 cc de caldo glicerinado adicionei 0,5 e 1,0cc de *Neurital* e semeei nêles, em séries de três tubos, incluindo os testemunhas, para cada cultura, uma alça de sementeiras recentes das minhas culturas Ns. 1a, 2 e 5. Após sete dias de incubação a 37°C. verifiquei franca germinação normal em todos os tubos, com formação de véus, sem turvamento do meio. O *Neurital* não tem, portanto, ação impediente sôbre êsses bacilos.

No dia 5-1-44, adicionei pequena quantidade de Cumarina puríssima sôbre cada uma das quatro culturas desenvolvidas e deixei-as na estufa. A 13-1 pareciam "mortas". Foram feitas repicagens em caldo glicerinado.

Sôbre a ação do ácido sulfúrico e da soda cáustica os informes atrás referidos são o bastante. O método de PETROFF (soluto a 10% de soda) para tratamento dos hematófagos não tem dado resultados muito encorajadores: o número de séries de semeaduras por êste método é muito grande a o de culturas obtidas muito pequeno.

## ABSTRACT

*Isolation and Cultures of acid-fast bacilli from Hematophagi infected in lepers. Evidences that the Hansen bacillus is in cause.*

The A. summarises the history of his first culture of acidfast bacillus isolated directly from leprosy lesions (Sample José) and refers about two samples recovered from guinea pig and white rat inoculated with said culture.

Then the A. completes his previous descriptions of four cultures of acidfast bacilli isolated by him from ticks (*Amblyomma cajennense* and *Boophilus microplus,* two cultures from each species) infected experimentally in lepers.

The A. having found specimens of two species of *Triatomidae* (*Triatoma infestans* and *Panstrongylus megistus*) naturally infected with HANSEN bacillus in huts habited by lepers in the State of Minas Gerais (Dec. 1942), started a series of experiments, using larvae and nymphs of *T. infestans* bred in laboratory at the Instituto Oswaldo Cruz, to infect in active cases of leprosy, in the city of Rio de Janeiro, could obtain two new samples of cultures of acid-fast bacilli (Ns. 6 and 7 of his set). In this paper the A. studies the biological properties of said cultures, proving that Penicilin has not effect upon them, like other substances.

The sulphuric and acetic acids were used to purify some of the cultures, with good results, the cultures becoming more rich and growing faster. Potassium hydroxide Sodium (10% solution) was also used with success to isolate and to purify the cultures, but it seems that it affects the bacilli in some way. In fluid glycerinated media the majority of such cultures produce velum suitable for the preparation of antigens for skin tests and for therapeutical use. At last the A. says that he is becoming convinced that the HANSEN bacillus is in cause, especially after three evidences of culturing the bacillus from one patient, in different opportunities.

# Estudos sôbre nematóides Filarídeos. Genótipo de Dipetalonema Diesing, 1861; valor dos gêneros Acanthocheilonema Cobbold, 1870 e Breinlia Yorke & Maplestone, 1926

por

J. F. Teixeira de Freitas

O presente artigo, mais uma contribuição ao conhecimento dos filarídeos, visa estabelecer a situação de questões até agora controvertidas, de modo a facilitar estudos posteriores. Assim, discutimos e designamos o genótipo de *Dipetalonema* Diesing, 1861, e tratamos da validade dos gêneros *Acanthocheilonema* Cobbold, 1870 e *Breinlia* Yorke & Maplestone, 1926.

## GENÓTIPO DE *DIPETALONEMA* DIESING, 1861

Em 1861, Diesing, ao estabelecer o gênero *Dipetalonema*, assim caracterizado:

> "Corpus longissimum filiforme. Caput corpore continuum. Os terminale, circulare. Extremitas caudalis maris inflexa aut spiralis, feminae spiraliter torta. Penis vagina dipetala. Apertura genitalis feminae antrorsum sita; uterus ... — In Mammalium, Avium et Amphibiorum cavo abdominis vel thoracis sub cute et inter musculos endoparasita",

nele inclui três espécies: *D. caudispina* (Molin, 1858), *D. inflexum* Diesing, 1861 (= *Filaria dipetala* Molin, 1858) e *D. mucronatum* (Molin, 1858), a primeira parasito de mamíferos (várias espécies de primatas), a segunda encontrada em ave (*Platyrhynchus pitangua*) e a terceira em reptil (*Boa constrictor*), não tendo designado, porém, qual a que deveria representar o tipo genérico.

Mais tarde, em 1905, Stiles & Hassall, ao fazerem a determinação de tipos genéricos de nematóides, dizem, à pág. 40, sôbre o gênero *Dipetalonema*, o seguinte:

> "This generic name is clearly based upon the specific name *Filaria dipetala* Mol., 1858. Of this species, however, only the male was known, and unfortunately, only a single specimen",

e mais adiante, à pág. 100:

> "Probably *caudispina* should be taken as type, as it is the only species figured and of which both sexes were known; further, the material was abundant."

Ortlepp, em 1924, refere:

> "Diesing (1861) created a new genus *Dipetalonema* for the reception of *F. caudispina*",

e Baylis & Daubney, em 1926, conhecedores do manuscrito da obra de Yorke & Maplestone, escrevem sobre o gênero de Diesing:

> "Apparently a synonym of *Filaria* (*sens. lat.*). No adequate generic definition exists. Diesing's genotype, *D. caudispina*, appears..."

Neste mesmo ano Yorke & Maplestone aceitam o gênero *Dipetalonema*, para o qual dão a seguinte diagnose:

> "*Setariinae*: filiform worms tapering towards each extremity, especially posteriorly; near the tip of the tail in each sex there is laterally a pair of short conical processes giving the end of the tail a trifid appearance; in the male the lateral processes are sometimes very small and difficult to see; mouth simple without lips, but surrounded by a flat cuticular shield which extends further laterally than dorsally and ventrally, so that the anterior extremity appears wider when viewed from the dorsal or ventral aspect than from the lateral; the cuticular shield bears on each side a large lateral and a pair of smaller submedian papillae; cuticle smooth; oesophagus consists of a short anterior muscular portion and a much longer posterior glandular portion, but sometimes there is no very clear line of demarcation between the two. Male: posterior extremity spirally rolled, tail long and tapering; caudal alae absent or extremely narrow; three or four pairs of pre- or peri-anal papillae, and two pairs of postanal papillae near the tip of the tail; spicules very unequal and dissimilar, the larger is stout anteriorly and very delicate posteriorly, the smaller is fairly stout and of almost uniform diameter, both ends in hooks; gubernaculum present at least in the type species. Female : posterior extremity long and tapering and extending some distance beyond the anus; vulva about the middle of the glandular portion of the oesophagus; opistodelphys. Viviparous, embryos unsheated and found in the peripheral blood. Parasites of serous cavities and connective tissue of mammals",

indicando como espécie tipo *D. gracile* (Rud., 1809), na sinonímia da qual colocam *Filaria caudispina* Molin, 1858.

No ano seguinte Walton, revendo a coleção de Leidy, assim se expressa sôbre a espécie tipo de *Dipetalonema*:

"Yorke and Maplestone 1925, following Linstow 1899, regard *Filaria caudispina* Molin as a synonomous with *F. gracile* Rud., 1809; therefore *F. gracile* becomes the type species of *Dipetalonema* Diesing, 1861."

Boulenger, em 1928, ao estudar filarídeos provenientes do Egito, refere:

"There seems little doubt that Diesing's genotype, *D. caudispina*, ..."

Baylis, em 1929, quando estuda o gênero *Acanthocheilonema* Cobbold, 1870, escreve em rodapé:

"... *D. caudispina* (Molin), the probable type of *Dipetalonema*."

Neste mesmo ano Stiles & Hassall consideram *D. caudispina* como tipo genérico por designação subseqüente, sendo, porém, um sinônimo subjetivo de *D. gracile*.

Em 1934 Baylis ainda considera *D. caudispina* como genótipo provável de *Dipetalonema*, como vemos pelo seguinte trecho:

"... *D. caudispina* (Molin), the probable genotype of *Dipetalonema*...",

porém, em 1939, aceita, como tal, *D. gracile* (Rud., 1809).

Recentemente tivemos oportunidade (Freitas, 1943) de reestudar e revalidar *D. caudispina*, o que nos permite, agora, firmar o genótipo de *Dipetalonema*, desde que *D. gracile* (Rud., 1809) não o pode ser, por não estar incluída na diagnose original.

O conhecimento de *D. caudispina* (Molin, 1858) permite-nos, ainda, apresentar a seguinte diagnose genérica:

## *DIPETALONEMA* diesing, 1861

*Filariidae*. Corpo longo, filiforme, com cutícula estriada longitudinalmente e com estrias transversais delicadas. Extremidades atenuadas. Extremidade cefálica com espessamentos laterais. Papilas cefálicas presentes. Bôca simples. Esôfago longo, dividido em duas porções de diâmetros quase iguais. Intestino mais ou menos retilíneo.

Fêmeas didelfas, opistodelfas, vivíparas, com vulva situada na região esofagiana. Vagina forte. Vestíbulo longo. Cauda curvada, possuindo no ápice três apêndices papiliformes. Ânus a certa distância do ápice caudal.

Machos com espículos desiguais e dissemelhantes. Espículo maior dividido em duas porções: uma proximal, grossa, e uma distal, mais fina; esta

mais longa que aquela. Gubernáculo presente. Asas caudais ausentes. Cauda enrolada em espiral. Papilas caudais presentes, pequenas, dispostas em dois grupos: um perianal, constituído de cinco pares de papilas, e um apical. Extremidade apical da cauda com três apêndices papiliformes, dos quais um terminal.

Parasitos de mamíferos.

Espécie tipo — *D. caudispina* (Molin, 1858).

## VALOR DO GÊNERO *ACANTHOCHEILONEMA* COBBOLD, 1870

O gênero *Acanthocheilonema* foi proposto por Cobbold, a 13 de janeiro de 1870, em uma das reuniões da "Zoological Society of London", com a seguinte diagnose:

> "Head furnished with three spinous lips; body filiform; female endoparasitic in mammals",

compreendendo uma só espécie, *A. dracunculoides*, parasito da cavidade peritoneal de *Proteles cristatus*, descrita, então, pela primeira vez, e que lhe fôra enviada pelo prof. Flower. Na reunião realizada por aquela Sociedade no dia 27 do mesmo mês Cobbold exibe espécimes de *A. dracunculoides*, sôbre êles tecendo comentários.

A 14 de dezembro de 1909, Leiper, mostrando, novamente, nesta mesma Sociedade, os exemplares originais da espécie de Cobbold, diz:

> "The characters of the genus, of which this is the type, have been inaccurately interpreted, the posterior end of the worm having been described as the head and the cuticular caudal appendages regarded as "lips". The remarkable specific characters — viz., the entire absence of male forms and the lack in the female of vaginal opening — had also to be repudiated, for both are to be seen in the original material.".

Dois anos mais tarde Leger descreve um filarídeo, que não determina, parasito da cavidade peritoneal de *Hyaena crocuta* Erxl.; esta espécie é logo suspeitada, por Railliet & Henry, ser idêntica à de Cobbold.

Em 1912 Railliet, Henry & Langeron estudam alguns exemplares do material de Leger, chegados às suas mãos por intermédio do prof. Mesnil, e, ainda, 9 machos e 17 fêmeas colhidos na cavidade peritoneal de um cão, que fôra trazido, por um dêles, de Túnis; consideram as duas amostras idênticas à *A. dracunculoides* Cobbold, 1870, que é, assim, redescrita com bastante detalhe, permitindo aos autores franceses organizar a seguinte diagnose para o gênero *Acanthocheilonema*:

> "*Filariidae* à corps grêle, filiforme, à cuticule lisse ou seulement striée dans le sens longitudinal, à bouche inerme suivie d'un oesophage formé de deux parties distinctes, à extrémité postérieure pourvue dans les deux sexes, tout près de la pointe terminale, de deux appendices latéraux courts et coniques. Mâles à extrémité postérieure spiralée, portant quatre paires de papilles préanales et une paire de postanales, à deux spicules inégaux; le grand membraneux dans sa partie distale, le petit terminé en crochet. Femelles vivipares, à vulve située dans la région oesophagienne. Parasites des séreuses des Carnivores ou des Primates. Embryons circulant généralement dans le sang."

Em 1926, com o aparecimento das obras de Baylis & Daubney e de Yorke & Maplestone, começaram a surgir dúvidas sôbre a validade do gênero de Cobbold. Assim, Baylis & Daubney, que tiveram oportunidade de ler o manuscrito de Yorke & Maplestone, apresentam para *Acanthocheilonema* a seguinte diagnose:

> "Cuticle with fine transverse striations, or none, or striated only longitudinally. Head blunt, with a pair of lateral papillae, and four submedian papillae which may have double terminations. Oesophagus consists of a relatively short, muscular, anterior portion and a long and stouter, glandular, posterior portion. Tail of male spirally twisted, usually without alae. Three or four pairs of preanal and at least three pairs of postanal papillae present. Frequently also, near the tip of the tail, a pair of small conical lateral appendages. Spicules very unequal and dissimilar; the left long, with a stout, tubular proximal portion and a narrow, filamentous, sometimes alate, distal portion, the right short, usually much stouter and variable in shape. Tail of female moderately long, digitiform, usually with a pair of conical appendages near its tip. Vulva circular, near the anterior end of the body. Common trunk of uterus long. Uterine branches parallel. Eggs small, thin-shelled. Viviparous. Embryos without "sheath". Hab.: Serous membranes or vascular system of Mammals",

e ao tratarem do gênero *Dipetalonema* Diesing, 1861, referem:

> "Apparently a synonym of *Filaria* (*sens. lat.*). No adequate generic definition exists. Diesing's genotype, *D. caudispina*, appears to be generally recognized as a synonym of *Filaria gracilis* Rudolphi, now referred to *Acanthocheilonema* Cobbold. If it were proved definitely that *F. gracilis* and *D. caudispina* are identical, then the name *Dipetalonema* would supersede *Acanthocheilonema*",

enquanto Yorke & Maplestone, revivendo o gênero *Dipetalonema*, consideram *Acanthocheilonema* como seu sinônimo.

Em 1927 Walton descreve espécies no gênero *Acanthocheilonema*, porém mostra-se influenciado pelo trabalho de Yorke & Maplestone, como podemos ver pelo trecho seguinte:

> "Yorke and Maplestone 1925, following Linstow 1899, regard *Filaria caudispina* Molin as a synonomous with *F. gracile* Rud. 1809; therefore *F. gracile* becomes the type species of *Dipetalonema* Diesing 1861. They regard the type species, *Acanthocheilonema dracunculoides,* as belonging to *Dipetalonema* and the genus *Acanthocheilonema* as falling in synonymy to *Dipetalonema.* If their contention should be upheld the species of *Acanthocheilonema* herein described would become *D. spelaea* and *D. multipapillata* respectively",

porém BOULENGER, em 1928, aceita *Dipetalonema* e diz:

> "There seems little doubt that Diesing's genotype. *D. caudispina,* is a synonym of *Filaria gracilis* Rodolphi, shown to be congeneric with *Acanthocheilonema dracunculoides* Cobbold (Boulenger, 1920); *Dipetalonema* must therefore supersede Cobbold's generic name".

BAYLIS, em 1929, em seu "Manual of Helminthology", escreve, em rodapé, à pág. 208:

> "Yorke and Maplestone (1926) consider this genus identical with *Dipetalonema* Diesing, 1861. This, however, depends upon the question of the identity of *D. caudispina* (Molin), the probable type of *Dipetalonema*. This imperfectly known species may be identical with *Acanthocheilonema gracile* (Rudolphi), since both are parasitic in South American monkeys. But in the absence of better evidence it seems wise to reserve judgement, and to retain the better-defined genus *Acanthocheilonema".*

Cinco anos mais tarde êste helmintologista refere:

> "The writer has elsewhere (1929) hesitated to accept the view that the genus *Acanthocheilonema* Cobbold, 1870, is synonymous with *Dipetalonema* Diesing, 1861. There appears, however, to be a consensus of opinion that *A. gracile* (Rud.) and *D. caudispina* (Molin), the probable genotype of *Dipetalonema,* are identical. If this be so, the generic name *Dipetalonema* must take precedence",

e, ainda em 1934, CAMERON aceita o gênero de COBBOLD, para o qual dá a curta diagnose seguinte::

> "Body very slender. Both sexes with a pair of small lateral caudal appendages".

McCOY, *em* 1936, refere em rodapé :

> "The name *Dipetalonema* Diesing, 1861, has been revived by Yorke and Maplestone (1926) to apply to this genus. The writer agrees with the reasons given by Baylis (1929, page 208) for retaining *Acanthocheilonema* Cobbold, 1870, as the more valid name",

ao passo que RAO, em 1938, ao verificar a existência de *D. dracunculoides* na India, aceita o gênero de DIESING.

BAYLIS, em 1939, considera *Dipetalonema* como válido, tendo como sinônimo o gênero de COBBOLD, proposto nove anos mais tarde.

Além dêstes autores varios outros são encontrados, aceitando ora um, ora outro dos gêneros em questão.

Com a redescrição de *Dipetalonema caudispina* que tivemos ocasião de fazer (FREITAS, 1943), e com o estabelecimento definitivo desta espécie como genótipo, torna-se possível, agora, apresentar solução a êste controvertido problema.

Comparando as diagnoses genéricas de *Dipetalonema* DIESING, 1861 e de *Acanthocheilonema* COBBOLD, 1870, assim como as descrições das respectivas espécies tipo — *D. caudispina* (MOLIN, 1858) e *A. dracunculoides* COBBOLD, 1870* — organizamos um quadro, cuja análise revela sòmente uma diferença que poderia ser considerada: ausência de gubernáculo em *Acanthocheilonema*. Entretanto, êste caráter distintivo perde seu valor, não só pela identidade das demais características, como também por ser êste órgão, no grupo em estudo, de observação às vêzes difícil. Comparando as figuras das caudas dos machos de *D. caudispina* (*in* FREITAS, 1943) e de *A. dracunculoides* (*in* RAILLIET, HENRY & LANGERON, 1912; *in* RAO, 1938) observamos que as papilas caudais do grupo que denominamos perianal são aproximadas entre si e, na realidade, perianais, na primeira espécie, ao passo que em *A. dracunculoides* elas se distanciam umas das outras, estendendo-se portanto, até certa distância adiante do ânus, perdendo, assim, a disposição perianal, passando, a maioria das papilas, à situação pré-anal. Esta pequena diferença de disposição papilar não justifica, absolutamente, a manutenção do gênero de COBBOLD, que consideramos, definitivamente, como idêntico à *Dipetalonema* DIESING, 1861.

## VALOR DO GÊNERO *BREINLIA* YORKE & MAPLESTONE, 1926

O gênero *Breinlia*, criado por YORKE & MAPLESTONE em 1926, para *Filaria trichosuri* BREINL, 1913, foi assim definido:

> "*Filariinae*: body attenuated anteriorly; mouth simple without lips, with four pairs of submedian head papillae;; with a short cylindrical buccal cavity;

(*) Convém lembrar que as descrições de Railliet, Henry & Langeron (1912) e a de Rao (1938) não são feitas de material colhido no hospedador tipo — *Proteles cristatus* (Sparrm.). Os pesquisadores franceses estudaram material proveniente de *Hyaena crocuta* Erxl. e de *Canis familiaris* L., e o autor indiano espécimes colhidos em cão indígena. O material original de Cobbold, incluído no Museu do "Royal College of Surgeons" possìvelmente ainda existe; seria de grande interêsse seu reestudo.

## QUADRO COMPARATIVO DOS GENEROS DIPETALONEMA, ACANTHOCHEILONEMA E BREINLIA

| | DIPETALONEMA DIESING. 1861 | ACANTHOCHEILONEMA COBBOLD. 1870 | BREINLIA YORKE & MAPLESTONE. 1926 |
|---|---|---|---|
| Corpo | Filiforme | Filiforme | Filiforme |
| Cutícula | Estriada longitudinalmente e com delicadas estrias transversas | Estriada longitudinalmente | Estriada transversalmente |
| Extremidade anterior | Atenuada, com 2 espessamentos laterais | Atenuada, com 2 espesssmentos laterais | Atenuada, sem espessamentos laterais |
| Papilas cefálicas | Presentes | Presentes | Presentes |
| Esôfago | Longo e dividido em 2 porções | Longo e dividido em 2 porções | Longo e dividido em 2 porções |
| Vulva | Na região esofagiana | Na região esofagiana | Para traz do nível do fim do esôfago |
| Ovejetor | Longo, com vagina forte | Longo | Longo, com vagina forte |
| Disposição do aparelho genital ♀ | Opistodelfia | Opistodelfia | Opistodelfia |
| Reprodução | Viviparidade | Viviparidade | Viviparidade |
| Anus ♀ | A uma certa distancia do ápice caudal | A uma certa distancia do ápice caudal | A uma certa distancia do ápice caudal |
| Cauda ♀ | Atenuada, com 2 curvaturas, tendo no ápice 3 apêndices papiliformes, dos quais 1 terminal | Atenuada, curvada, tendo no ápice 3 apêndices papiliformes, dos quais 1 terminal | Atenuada, curvada ventralmente, tendo no ápice 3 apêndices papiliformes, dos quais 1 terminal* |
| Espículos | Desiguais e dissemelhantes | Desiguais e dissemelhantes | Desiguais e dissemelhantes |
| Espículo maior | Constituído de 2 porções: uma proximal, grossa e uma distal, mais fina | Constituído de 2 porções: uma proximal, grossa, e uma distal, mais fina | Não constituído de 2 porções: cilíndrico na região proximal, atenuando-se na distal |
| Relação entre as porções do espículo maior | Porção distal pouco maior que a proximal | ? (Pela figura de Rao, 1938, a porção distal parece ser levemente mais longa) | — |
| Gubernáculo | Presente | Ausente (?) | Presente |
| Papilas caudais | Dispostas em 2 grupos: um perianal, com 5 pares, e um apical | Dispostas em 2 grupos: um anal, com 5 pares (4 pré-anais) e um apical | Dispostas em um grupo anal, com 6 pares |
| Cauda ♂ | Enrolada em espiral, tendo próximo ao ápice 2 apêndices papiliformes, e no ápice 1 outro terminal | Enrolada em espiral, tendo no ápice 3 apêndices papiliformes, dos quais 1 terminal | Enrolada em espiral, tendo no ápice 2 pares de papilas** |
| Anus ♂ | Com bordos salientes | Com bordos salientes | Com bordos salientes |
| Espécie tipo | *D. caudispina* (Molin, 1858) | *A. dracunculoides* Cobbold, 1870 | *B. trichosuri* (Breinl, 1913) |
| *Habitat* | Cavidade peritoneal de mamíferos (primatas) | Cavidade peritoneal de mamíferos (carnívoros) | Cavidade peritoneal de mamíferos (marsupiais) |

* Segundo YORKE & MAPLESTONE existem 2 pares de pequenas papilas subterminais, 1 de cada lado; segundo BREINL existe somente 1 par; adotamos acima o referido por JOHNSTON & MAWSON.

** Segundo BAYLIS existem 1 pequeno par lateral e 1 botão terminal.

cuticle transversely striated; oesophagus divided into two parts, a shorter anterior portion and a longer rather broader posterior portion, but without any very clear line of demarcation between the two parts. Male: posterior extremity coiled spirally, tail digitiform; caudal alae absent or extremely narrow; with about three pairs of preanal and three of postanal papillae; spicules unequal, both stout and heavily chitinized, the longer cylindrical proximally, tapering distally and shaped like a curved surgical needle, the shorter cylindrical with a spatulate extremity in which the end of the longer spicule glides; gubernaculum present. Female: posterior extremity digitiform with a pair of small subterminal papillae on each side; vulva some distance behind the termination of the oesophagus: opisthodelphys. Viviparous; the microfilariae are found in the blood. Parasites of marsupials."

"Type species: *B. trichosuri* (Breinl, 1913)."

Em 1934, Baylis, estudando a coleção da "School of Public Health and Tropical Medicine, Sydney", diz :

"The collection includes a complete male and some fragments, probably part of the type material, of *Filaria trichosuri* Breinl. These were collected by Dr. A. Breinl from the body-cavity of a grey opossum (*Trichosurus vulpecula*), July 5, 1910. There is also an immature female, probably of the same species, collected by Dr. W. Nicoll, in January, 1913, from the peritoneum of the agile wallaby (*Macropus agilis*) at Cromarty."

"Boulenger (1928) has suggested that the material from *T. vulpecula* previously recorded by the writer (Baylis, 1925) as *Acanthocheilonema australe* (v. Linstow) possibly belonged to a species different from, though closely related to, v. Linstow's. At the same time Boulenger describes material from *Halmaturus* (i. e., *Macropus*) sp. which he considers to belong to v. Linstow's species. The most important difference mentioned by Boulenger between the two supposed forms lies in the size of the spicules. His figures suggest that there is also a difference in the shape of the right (shorter) spicule. The writer has had the opportunity of comparing a pair of specimens from the material examined by Boulenger with (1) Breinl's specimens, (2) the material referred to in 1925 from *Trichosurus vulpecula,* and (3) specimens obtained by Dr. G. M. Heydon from an opossum and a wallaby at Townsville, North Queensland. The comparison shows that all these forms have a right spicule which, in a strictly lateral view, is of the shape indicated in the writer's (1925) figure, and that the length of both spicules is subject to a good deal of variation. The apparent form of the right spicule may be altered considerably if the tail of the worm be rolled under a cover-glass into slightly different positions. Moreover, in different specimens the appearance of the structure which has by some authors been regarded as an accessory piece or gubernaculum, but was described by the writer (1925) as probably part of the right spicule, is variable. In some individuals it has the appearance of being fused with the spicule, while in others it looks more like a separate nodule. In view of these variations it seems reasonable to assume that all the specimens referred to belong to one and the same species. Walton (1927), who has examined female specimens

> which he believes to be part of the type material of *Filaria spelaea* Leidy, is of the opinion that this species and *Filaria australis* v. Linstow are identical. The writer finds that in all important characters Walton's description agrees with the female specimens examined, and therefore accepts the view that Leidy's specific name should be used for the species.",

concluindo que :

> "With regard to the genus to which this form should be referred, the writer is unable to follow Yorke and Maplestone (1926) in placing it in a special genus, *Breinlia*. The definition of this genus does not, in the writer's opinion, indicate any characters of sufficient importance to separate it from *Dipetalonema*, as defined by the same authors".

Skrjabin & Schikhobalova, em 1936, aceitam o gênero *Breinlia*, que é definido em chave, com os seguintes caracteres:

> "Le trident chitineux est absent; la cuticule n'a pas de bague ni d'épaississements; les spicules sont inégaux et de structure différente; la cavité buccale est dépourvue du collet chitineux et de formations en épaulettes (*Filariinae*); les mâles sont dépourvus d'ailes caudales, le gubernaculum est présent, les lèvres sont absents; la tête est pourvue d'une capsule buccale plus ou moins prononcée; le gubernaculum est present; la cavité buccale est entourée de 8 papilles submédianes et passe dans la capsule buccale courte et cylindrique, l'oesophage n'est pas divisé en deux parties d'une manière fortement prononcée, le spicule gauche est deux fois plus long que le spicule droit, l'extrémité caudale n'est pas digitiforme, parasites des marsupiaux".

No ano seguinte Freitas & Lent aceitam a opinião de Baylis porém, em 1938, Johnston & Mawson, embora considerando *Breinlia* como sinônimo de *Dipetalonema*, concordam com o parecer de Boulenger (1928), e, ainda mais, consideram a espécie identificada por Baylis, em 1925, à *Acanthocheilonema australe* (Linstow, 1897) como igual à *Dipetalonema trichosuri* (Breinl, 1913). Dizem êstes autores :

> "We have examined numerous worms from *Trichosurus vulpecula* and *Petrogale penicillata*, and find that in males from the latter host the major spicule is always long, agreeing with Linstow's account, but that in those from *Trichosurus* it is short, agreeing with Breinl's description. The difference in size, moreover, is so great that we are unable to agree with Baylis in his identification, and we agree with Boulenger that there are two closely allied species".
>
> "(1) *Dipetalonema spelaea* (Leidy); found in the body cavity of *Petrogale penicillata*. Synonyms: *Filaria spelaea* Leidy, 1875; *F. australis* Linstow, 1897; *Setaria spelaea* Railliet & Henry, 1911; *Acanthocheilonema spelaea* Walton, 1927; *Dipetalonema australe* Boulenger, 1928"

"(2) *Dipetalonema trichosuri* (Breinl); found in the body cavity of *Trichosurus vulpecula*. Synonyms: *Filaria trichosuri* Breinl, 1913; *Acanthocheilonema australe* Baylis, 1925; *Breinlia trichosuri* Yorke and Maplestone, 1926."

Revendo as publicações de BAYLIS (1925) e de BOULENGER (1928) chegamos às mesmas conclusões de JOHNSTON & MAWSON, isto é, ser *Filaria trichosuri* BREINL, 1913, espécie autônoma, estudada por BAYLIS, doze anos após sua descrição original, sob o nome de *Acanthocheilonema australe* (LINSTOW, 1897).

Com o conhecimento de *Dipetalonema caudispina* (MOLIN, 1858), espécie tipo de *Dipetalonema* DIESING, 1861, podemos, agora, fazer o estudo comparativo dos gêneros de DIESING e de YORKE & MAPLESTONE, que são analisados no quadro acima, no qual vemos *Breinlia* diferir de *Dipetalonema* pelos seguintes caracteres: *a*) extremidade anterior sem espessamentos laterais (razão pela qual é êle incluído em *Filariinae* por YORKE & MAPLESTONE e por SKRJABIN & SCHIKHOBALOVA); *b*) vulva situada atrás do nível do fim do esôfago; *c*) espículo maior não dividido em duas porções; *d*) ausência do grupo apical de papilas caudais no macho.

O primeiro caráter diferencial, considerado de grande valor por alguns autores e de somenos importância por outros, é, às vêzes, de observação difícil e, a nosso ver, não seria, isolado, suficiente para uma separação genérica. O segundo caráter, relação da abertura vulvar com a região esofagiana, não possui valor genérico, pelas variações encontradas entre várias espécies de filarídeos, e, algumas vêzes, entre indivíduos de uma única espécie. O terceiro caráter que distingue os dois gêneros deve ser considerado de real valor, porquanto é representado por diferença de morfologia de um órgão quitinoso, suscetível de pequenas variações em comprimento, porem não variável na morfologia geral. O quarto e último caráter, considerado isoladamente, pouco valeria, porquanto as papilas caudais nos machos são sujeitas, geralmente, a variações, que em certas espécies abrangem limites amplos.

A morfologia do espículo maior, ao lado dos demais caracteres diferenciais, nos leva a considerar *Breinlia* YORKE & MAPLESTONE, 1926, como um gênero diferente de *Dipetalonema* DIESING, 1861.

## SUMMARY

The author divides the article in three parts. In the first part he studies the literature on the genotype of *Dipetalonema* DIESING, 1861 — *D. caudispina* (MOLIN, 1858), and gives a new generic diagnosis of the Diesing's

genus, based upon its type species. In the second one he studies the literature on the validity of *Acanthocheilonema* Cobbold, 1870, and, comparing both generic definition and type-species description of *Acanthocheilonema dracunculoides* Cobbold, 1870 and *Dipetalonema caudispina* (Molin, 1858), concludes that Cobbold's genus *Acanthocheilonema* must be, definitely, considered as a synonym of *Dipetalonema* Diesing, 1861. In the third part a comparative study, based on the literature, is made between generic definitions and type-species descriptions of *Breinlia trichosuri* (Breinl, 1913) and *Dipetalonema caudispina* (Molin, 1858), and the author concludes that *Breinlia* must be considered as a valid genus, distinguished from *Dipetalonema*, principally, by the morphology of the longer spicule.

## BIBLIOGRAFIA

Baylis, H. A.

1925. Notes on some Australian parasitic Nematodes. Ann. Mag. Nat. Hist., ser. 9, 15 : 112-115, 1 fig.

Baylis, H. A.

1929. A Manual of Helminthology medical and veterinary. XI + 303 pp., 200 figs., London.

Baylis, H. A.

1934. On two Filariid parasites of Marsupials from Queensland. Ann. Mag. Nat. Hist., ser 10, 13 : 549-554, 2 figs.

Baylis, H. A.

1939. The Fauna of British India, 2 : XXVIII + 274 pp., 150 figs., London.

Baylis, H. A. & Daubney, R.

1926. A Synopsis of the families of Nematoda. XXXVI + 277 pp., London.

Boulenger, C. L.

1920. Filariid worms from Mammals and Birds in the Society's Gardens, 1914-1915. Proc. Zool. Soc. London : 491-505, figs. 1-12.

Boulenger, C. L.

1928. Report on a collection of parasitic Nematodes, mainly from Egypt. Part V, *Filarioidea*. Parasit., 20 : 32-55, 51 figs.

Breinl, A.

1913. Nematodes observed in North Queensland. Australian Inst. Trop. Med., Report for 1911, pp. 39-48, pls. 1-11.

CAMERON, T. W. M.

1934. The internal parasites of domestic animals. A Manual for Veterinary Surgeons. XII + 292 pp., 144 figs., London.

COBBOLD, T. S.

1870. Description of a new generic type of Entozoon from the Aard wolf (*Proteles*), with remarks on its affinities, especially in reference to the question of parthenogenesis. Proc. Zool. Soc. London, 1 : 9-14.

COBBOLD, T. S.

1870. [Exhibition of an Entozoon from the Aard wolf (*Acanthocheilonema dracunculoides*)]. Proc. Zool. Soc. London, 1 : 52.

DIESING, K. M.

1861. Revision der Nematoden. Sitzungsb. d. k. Akad. d. Wissensch., Wien, Math.-naturw. Cl., 42 (28) : 595-736, 1 pl., figs. 1-11.

FREITAS, J. F. T.

1943. Estudos sôbre nematódeos filarídeos. *Dipetalonema caudispina* (Molin, 1858.). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 38 (3) : 361-372, figs. 1-2.

FREITAS, J. F. T. & LENT, H.

1937. Sôbre *Oswaldofilaria brevicaudata* (Rhodain & Vuylsteke, 1937) n. comb. (Nematoda : Filarioidea). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 32 (3) : 439-442, 2 estampas, 10 figs.

JOHNSTON, T. H. & MAWSON, P. M.

1938. An account of some filarial parasites of Australian Marsupials. Trans. Roy. S. Australia, 62 (1) : 107-121, figs. 1-37.

LEGER, A.

1911. Filaire à embryons sanguicoles de *l'Hyaena crocuta* Erxleben. Bull. Soc. Path. Exot., 4 : 629-630.

LEIPER, R. T.

1909. [The original specimens of the nematode *Acanthocheilonema dracunculoides* Cobb.]. Proc. Zool. Soc. London, 2 : 889.

McCOY, O. R.

1936. Filarial parasites of the Monkeys of Panama. Amer. J. Trop. Med., Baltimore, 16 (4) : 383-403, 2 pls. 19 figs.

ORTLEPP, R. J.

1924. On a collection of helminths from Dutch Guiana. J. Helminth., 2 : 15-40, figs. 1-14.

RAILLIET, A. & HENRY, A.

1911. (Discussion à Filaire de *l'Hyaena crocuta*, de Leger). Bull. Soc. Path. Exot., 4 : 630-631.

RAILLIET, A., HENRY, A. & LANGERON, M.

1912. Le genre *Acanthocheilonema* Cobbold, et les filaires péritonéales des carnivores. Bull. Soc. Path. Exot., 5 (6) : 392-395, 1 fig.

SKRJABIN, K. I. & SCHIKHOBALOVA, N. P.

1936. Contribution au remaniement de la classification des nématodes de l'ordre des *Filariata* Skrjabin, 1915. Ann. Parasit., 14 (1) : 61-75.

STILES, C. W. & HASSALL, A.

1905. The determination of generic types, and a list of roundworms genera, with their original and type species. Bull. 79, Bur. Anim. Indust., U. S. Dept. Agric., Washington, pp. 1-150.

STILES, C. W. & HASSALL, A.

1929. Key-catalogue of parasites reported for Primates (monkeys and lemurs) with their possible public health importance. Hyg. Lab. Bull. n. 152. U. S. Treas. Dept. Public Health Serv., Washington, pp. 409-491.

WALTON, A. C.

1927. A revision of the Nematodes of the Leidy collection. Proc. Acad. Nat. Sc., Philadelphia, 79 : 49-163, pls. 4-10, 92 figs.

YORKE, W. & MAPLESTONE, P. A.

1926. The Nematode parasites of Vertebrates. X + 536 pp., 307 figs., London.

# Mielencefalite espontânea dos camundongos

por

Hermínio Linhares

Instituto Oswaldo Cruz

e A. Borges Fortes

Docente e Chefe de Clínica Neurológica da Faculdade Nacional de Medicina

(Com 18 figuras no texto)

A presença de vírus em certos animais aparentemente sadios, motiva às vêzes erros em observações experimentais. Tem-se procurado contudo conhecer as doenças dos animais de laboratório, principalmente as causadas por vírus, que freqüentemente mascaram os resultados de inoculações com outro material. O camundongo foi apontado como portador de vários vírus, mesmo em animais de criação em que todos os cuidados são tomados para evitar qualquer contaminação possível.

Foi Theiler (31, 32) quem descobriu e descreveu a encefalomielite espontânea dos camundongos, causada por vírus. O período de incubação dessa doença varia de 7 a 30 dias; há paralisia flácida de um ou mais membros, mas quando os animais são muito jovens morrem após inoculação intracerebral sem ter paralisia. Exceto a via intracerebral, a instilação nasal é o único método de infecção. O vírus não é patogênico para o macaco rhesus. Foram isoladas cinco amostras de vírus, tendo tôdas aproximadamente o mesmo grau de virulência, exceto a amostra 4, relativamente avirulenta, com a qual nenhum ou apenas poucos camundongos do total inoculado mostram sintomas de paralisia.

Theiler e Gard (34) verificaram que o vírus mede 9 e 13 milimicra, é destruído ràpidamente na temperatura de 50°C, precipita pelo sulfato de amônio e tem dois ótimos de estabilidade, um cêrca de pH 8,0 e outro 3,3. Animais inoculados por via intracerebral com amostra pouco virulenta adquirem alto grau de imunidade a uma subseqüente inoculação de amostra muito virulenta. Há relação entre a amostra de vírus inoculada e o tempo de incuba-

* Recebido para publicação a 29 de janeiro e dado à publicidade em fevereiro de 1944.

ção; a recíproca do período de incubação achado é proporcional ao logaritmo da amostra de vírus inoculada (10).

O vírus foi obtido purificado por GARD e PEDERSEN (11). BOURDILLON (3) aplicou o método da difusão analítica ao estudo dêste vírus e observou que a preparação não era homogênea, com 10% de infetividade em partículas com cêrca de 15 milimicra de diâmetro. MELNICK (21) concentrou 4.000 cc. de uma solução contendo cérebro de camundongo infetado, em volumes de 40 a 80 cc. O vírus presente nas soluções pervaporadas foi também concentrado no ultracentrífugo em frações ativas, com volume menor do que 1 cc.

GILDEMEISTER e AHLFELD (12) verificaram um caso de meningencefalite espontânea em camundongos de criação, causada por um vírus que foi passado em camundongo por inoculação intracerebral. O principal sintoma era paralisia dos membros posteriores. Nem todos os animais morriam; nesse caso albergavam o vírus no cérebro e medula por muito tempo. IGUCHI (15) também isolou um vírus, de uma doença semelhante à encefalite descrita por THEILER, tendo feito 15 passagens.

OLITSKY (23 a 26) observou que camundongos normais albergam o vírus no intestino, o qual não foi isolado do alimento ou da água. O vírus não foi encontrado em camundongo com menos de 12 dias de idade, estivesse ou não presente no intestino materno; com 20 a 25 dias foi observado irregularmente, porém a partir daí se encontra com grande freqüência. Mesmo animais inoculados no cérebro têm filhos que não demonstram vírus até o 5.º dia. Não foi isolado do cérebro de animais que tinham o vírus no intestino. Não conseguiu infetar rhesus por inoculação intracerebral, não tendo sido mesmo possível evidenciar o vírus no sistema nervoso central, 24 horas depois de administrado. OLITSKY e SCHLESINGER (28) isolaram-no também do intestino de camundongo cinzento aparentemente normal.

THEILER e GARD (35) isolaram um vírus das fezes de camundongo, semelhante ao estudado; animais alimentados com água e comida esterilizadas, continuaram a excretá-lo por mais de 53 dias.

Resultados interessantes foram obtidos por DUNHAM e PARKER (5) inoculando o vírus em embrião de galinha; fizeram suspensão a 10% de cérebro de camundongo infetado e inocularam por via intracerebral embriões de 11 a 13 dias, conseguindo 6 passagens, sem que entretanto houvesse sinais evidentes de infecção; o cérebro de embriões da terceira e sexta passagens produziu infecção em camundongos; o cérebro da sexta passagem foi inoculado na membrana corioalantóide e após 5 passagens neste tecido, matou camundongo com sintomas típicos.

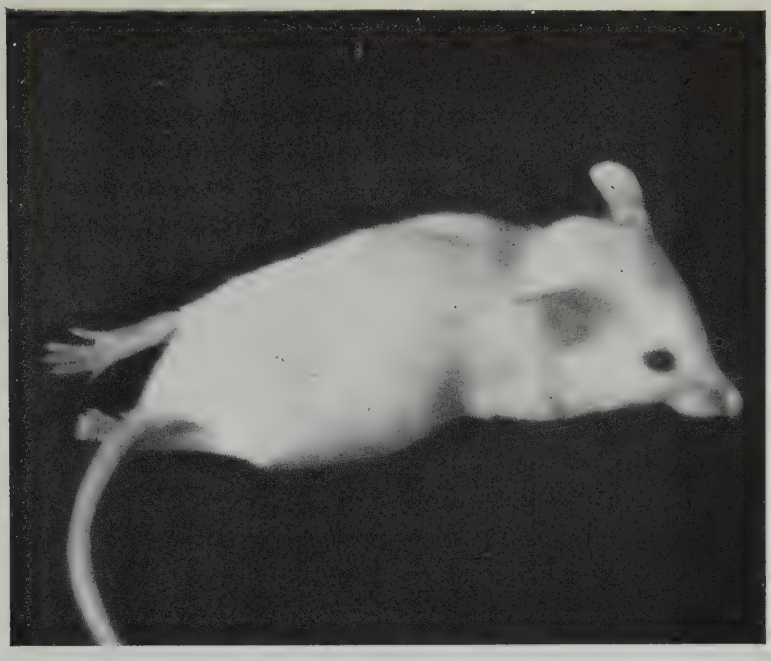


Fig. 1 — Camundongo branco de criação, com mielencefalite espontânea.
Foto *J. Pinto*.

GAHAGAN e STEVENSON (9) isolaram um vírus produtor de encefalomielite espontânea de camundongo transmissível por via intracerebral, mas não por instilação nasal. Algumas diferenças pequenas quanto ao comportamento do vírus levaram à suposição de que talvez não se tratasse do vírus de THEILER.

FINDLAY (7) diz que êste vírus da encefalomielite de THEILER não foi encontrado na Inglaterra.

E' nossa intenção neste trabalho relatar o isolamento de amostras de vírus encefalomielítico, obtidas de camundongos espontâneamente infetados e apresentar os resultados dos estudos feitos a fim de determinar algumas de suas características.

## MATERIAL E MÉTODOS

a) Amostras de vírus: após já têrmos visto camundongos com encefalomielite espontânea entre os animais de criação da Fundação Rockefeller, resolvemos procurar também a doença nos camundongos brancos, suíços, da criação do Instituto Oswaldo Cruz, aliás provenientes da Fundação. Em

13-7-43, examinamos 7.000 animais com mais de 18 dias. Encontramos um com o pêlo eriçado, certa dificuldade em andar, devido a uma paralisia do membro posterior esquerdo; havia também outro, já moribundo, que apresentava paralisia de todo o trem posterior. Êstes animais, antes de serem sacrificados, foram mostrados ao Diretor do Instituto, Dr. HENRIQUE ARAGÃO, conhecedor de doenças por vírus, o qual sugeriu fôssem feitas inoculações em outros animais.

Fig. 2 — Tetraplegia em camundongo com mielencefalite após instilação nasal do vírus.

Foto *M. Cesar*.

Êstes dois camundongos foram sacrificados com éter, retirados o cérebro e medula, com os quais foram feitas suspensões a 10% em solução fisiológica e para cada uma inoculados, por via intracerebral, camundongos adultos de 36 dias e jovens de 19 dias.

Com o material proveniente do animal moribundo, dos camondongos adultos morreram, um no 11.º dia pós-inoculação e outro no 14.º dia, com sintomas de encefalomielite; ambos mostraram paralisia dos membros posteriores. Os demais inoculados, num total de 8, morreram nos primeiros dias após a inoculação sem sintomas aparentes de infecção.

No outro lote, de 10 camundongos, 7 ficaram doentes, sendo que 3 foram sacrificados no início, 2 morreram doentes mas sem paralisia, 1 morreu no 11.º dia após apresentar por dois dias paralisia dos membros posteriores e 1 foi sacrificado a fim de serem feitas passagens, após 6 dias de doença, apresentando uma paralisia progressiva.

Em outra série de experiências, seguindo a técnica de Olitsky (20) sacrificamos 14 camundongos aparentemente normais, adultos de mais ou menos 40 dias de idade, retiramos todo o intestino que foi triturado e emulsionado juntamente com as fezes. A suspensão foi feita em caldo simples, centrifugada 10 minutos e filtrada em Chamberland L5; também foi feita emulsão idêntica e filtrada em Seitz EK (essas filtrações foram feitas no laboratório

Fig. 3 — Cérebro de camundongo com mielencefalite espontânea. Circunvolução do hipocampo. Infiltração mononuclear perivascular, em focos. Hematoxilina-eosina.
Foto *J. Pinto*.

de Bacteriologia, graças à gentileza do Dr. Genésio Pacheco, a quem muito agradecemos). Em seguida, inoculamos 0,03 cc. i. c. do filtrado em camundongos adultos; foi possível a observação de um agente filtrável capaz de produzir uma doença semelhante à de Theiler.

Essas três amostras serviram para as experiências.

*b*) Animais de experiência: camundongos suíços, albinos, criados no laboratório, com idade variável de 3 a 6 semanas, foram utilizados neste estudo para as pesquisas e dosagens dos vírus isolados.

*c*) Técnica de infecção: foram feitas pesquisas inoculando camundongos por via intracerebral, algumas vêzes por via intraperitoneal e por instilação nasal. As inoculações geralmente foram feitas em grupos de 6 camundongos, os quais receberam, quer nas inoculações intracerebrais quer nas instilações

nasais, 0,03 cc. de suspensão de cérebro e medula infetados; para a inoculação intraperitoneal, administrava-se 0,20 ou 0,40 cc. de suspensão de vírus e ao mesmo tempo fazia-se, para os camundongos adultos, uma injeção i. c. de 0,03 cc. de suspensão a 2% de goma de amido.

Para as titulações foram utilizados grupos de 6 camundongos adultos, cada um dos quais recebeu diluições decimais de vírus. A mortalidade de 50 % dos animais, o ponto limite da titulação, foi calculada pelo metodo de Reed e Muench (29), no qual uma dose mínima mortal (DMM) é definida como a quantidade de vírus contida em 0,03 cc. da diluição "ponto limite".

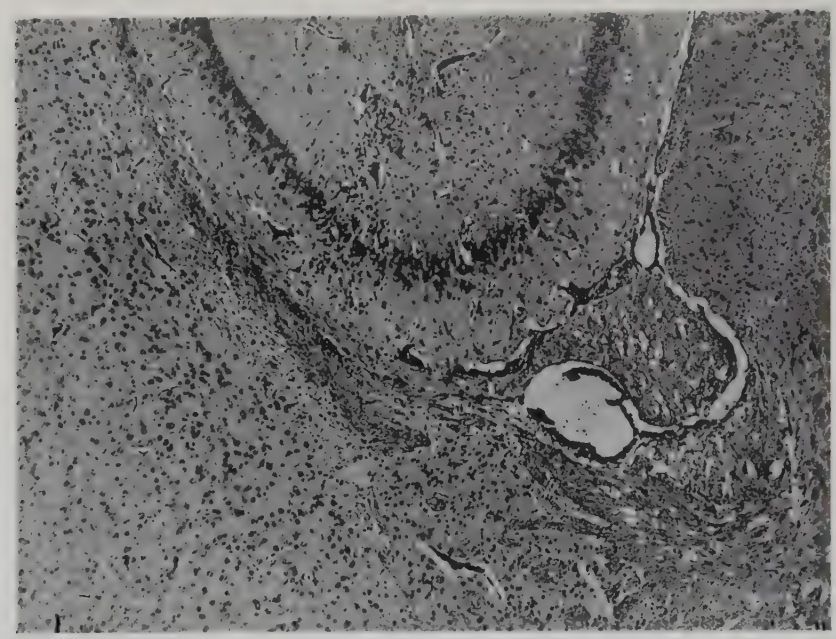


Fig. 4 — Outro aspecto da lesão observada na fig. 3.
Foto *J. Pinto*.

*d*) Observação dos animais : êles foram examinados diàriamente pelo menos durante 40 dias e registrados em cartões adequados todos os sintomas observados.

*e*) Passagens do vírus : para as passagens foram retirados cérebros de camundongos paraliticos, geralmente moribundos, que foram sacrificados com éter. As suspensões foram feitas em solução fisiológica e o material filtrado em Chamberland L3. ou Seitz EK. Grupos de 6 e 12 camundongos foram inoculados por via intracerebral.

*f*) Exames histopatológicos : foram feitas autópsias em animais cuja morte se processou como término da doença ou que foi produzida pelo éter ou

clorofórmio. Retirados os cérebros e medulas, foram fixados em formol a 10% e corados pela hematoxilina-eosina. Com êsse material foram feitos os estudos sôbre as lesões histopatológicas produzidas pelo vírus.

PARTE EXPERIMENTAL

1) — *Isolamento do vírus e passagem em série.*

Durante o exame dos camundongos da criação do Instituto Oswaldo Cruz, observamos dois que apresentavam o aspecto da doença de Theiler, num total de 7.000 animais. Ambos eram adultos, com idade de 5 a 6 semanas.

Fig. 5 — Cérebro de camundongo com mielencefalite espontânea. Hemorragia no espaço de Virchow-Robin, coincidindo com intensa infiltração mononuclear perivascular. Hematoxilina-eosina.

Foto *J. Pinto*.

Êles foram sacrificados com éter, retirados os cérebros e medulas, feitas suspensões a 10% em solução fisiológica, sendo o material inoculado por via intracerebral em grupos de 6 a 12 camundongos. A terceira amostra foi obtida por trituração e filtração do intestino de camundongos aparentemente normais. Foram feitas com as 3 amostras dez passagens por inoculação intracerebral em camundongos adultos e jovens; geralmente utilizamos material de camundongos paralíticos, mas em alguns casos fizemos passagens com cérebro e medula de animais ainda no período de incubação. Denominamos as três amostras de A, B e C.

As passagens sucessivas aumentaram a virulência, o que se verificou não só pela diminuição do periodo médio de incubação como pela maior incidência da morbidade e da mortalidade (quadro nº 1). Assim, por exemplo, com a amostra A foram inoculados, na segunda passagem, 12 camundongos dos quais 7 ficaram paralíticos, 3 entre os adultos e 4 entre os de 21 dias, com tempo médio de incubação para os primeiros de 15, 2 dias e para os últimos de 12 dias, tendo apenas morrido 1 durante o período de observação. Na décima passagem também foram inoculados 12 animais, tendo todos ficado paralíticos, com tempo médio de incubação para os adultos de 10,3 dias e para os de 21 dias de 9,2, morrendo todos, com apenas uma exceção, até o 30.º dia. Verificou-se que o período médio de incubação é sempre menor nos camundongos jovens.

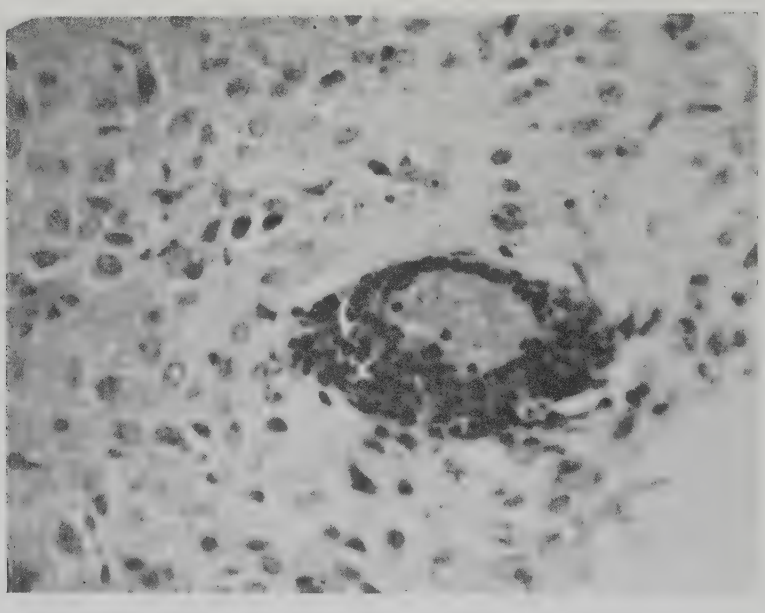


Fig. 6 — Cérebro de camundongo com mielencefalite espontânea. Infiltração mononuclear perivascular.

Foto *J. Pinto*.

Após dez passagens resolvemos fazer prova de imunidade cruzada a fim de verificarmos, como tudo aliás parecia mostrar, que as três amostras eram idênticas. Tomamos 12 camundongos de cada grupo, que haviam sido inoculados no cérebro 50 a 80 dias antes dêste teste e que sobreviveram à infecção; cêrca de 30 dias antes inoculamos os animais com 0,3 cc. intraperitoneal, com o mesmo vírus que êles haviam recebidos antes. Dividimos em três subgrupos de 4 e inoculamos por via intracerebral cada um dêles com as três

amostras de vírus. Assim, por exemplo, o grupo que recebera a amostra A foi separado em três subgrupos recebendo um dêles novamente a amostra A e os outros dois as amostras B e C. O mesmo foi feito com os outros grupos. Como contrôle foram inoculados camundongos normais da mesma idade. O resultado (quadro n.º 2) mostrou que a grande maioria dos animais não apresentam novamente sintomas de infecção.

Essa pesquisa não afasta contudo a hipótese de ter havido um fenômeno de interferência, pois o vírus pode sobreviver muito tempo no sistema nervoso central, após uma inoculação por via intracerebral. Fizemos então uma experiência menor com as amostras A e B. Inoculamos quatro vêzes, com intervalo de 5 a 7 dias, dois grupos de 5 camundongos jovens, com 0,3 cc. intraperitoneal de cada uma das amostras. Trinta dias depois injetamos por via intracerebral 0,03 cc. de suspensão a 10% da amostra A no grupo B e da amostra B no grupo A. A imunização dos camundongos por via intraperitoneal com a amostra A produziu uma imunidade observada pela inoculação intracerebral da amostra B, pois em 5 ficaram apenas 2 doentes, ao passo que 4 controles normais que receberam a amostra B apresentaram paralisias e morreram no prazo da observação. Por outro lado os camundongos imunizados com a amostra B e que foram depois inoculados no cérebro com a amostra A, num total de 5, apenas 1 apresentou paralisia ou qualquer outro sintoma de infecção durante todo o período de observação; no entanto, os controles normais inoculados com a amostra A adoeceram e morreram todos. Outrossim o tempo médio de incubação nos 3 camundongos que apresentaram paralisia, nos dois grupos prèviamente imunizados, foi de 17,6 e nos controles de 13,3 dias.

QUADRO N.º 1

**RESULTADOS OBSERVADOS NA II, VI E X PASSAGEM POR VIA INTRACEREBRAL EM CAMONDONGO, DAS TRES AMOSTRAS DE VIRUS ISOLADAS**

| AMOSTRA | PASSAGEM | CAMUNDONGOS ADULTOS | | | | CAMUNDONGOS DE 21 DIAS | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | N.º | Paralíticos | * P. M. I. | Mortos | N.º | Paralíticos | * P. M. I. | Mortos |
| A | II | 6 | 3 | 15,2 | 1 | 6 | 4 | 12,0 | 0 |
| | VI | 6 | 6 | 10,5 | 4 | 6 | 6 | 9,5 | 6 |
| | X | 6 | 6 | 10,3 | 6 | 6 | 6 | 9,2 | 5 |
| B | II | 6 | 3 | 13,0 | 0 | 6 | 3 | 11,6 | 2 |
| | VI | 6 | 3 | 11,3 | 3 | 5 | 4 | 10,6 | 4 |
| | X | 6 | 6 | 10,4 | 4 | 6 | 6 | 10,0 | 4 |
| C | II | 6 | 3 | 17,3 | 1 | 5 | 3 | 16,3 | 1 |
| | VI | 6 | 4 | 15,2 | 2 | 4 | 2 | 12,0 | 2 |
| | X | 6 | 4 | 13,2 | 3 | 5 | 4 | 10,3 | 3 |

(*) P. M. I.: período médio de incubação, em dias.

QUADRO N.º 2

**PROVA DE IMUNIDADE CRUZADA ENTRE AS AMOSTRAS A, B E C, DE VIRUS PRODUTOR DA MIELENCEFALITE DOS CAMONDONGOS**

| IMUNIZAÇÃO | | PROVA DE IMUNIDADE | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Amostra de vírus | Via | 0.03 cc. i. c. de vírus | N.º do camundongos | N.º de doentes | % |
| A | i. c. e i. p. | Amostra A | 4 | 0 | 0 |
| A | i. c. e i. p. | Amostra B | 4 | 1 | 25 |
| A | i. c. e i. p. | Amostra C | 4 | 2 | 50 |
| Contrôle normal | — | Amostra A | 5 | 5 | 100 |
| B | i. c. e i. p. | Amostra A | 4 | 0 | 0 |
| B | i. c. e i. p. | Amostra B | 4 | 0 | 0 |
| B | i. c. e i. p. | Amostra C | 4 | 1 | 25 |
| Contrôle normal | — | Amostra B | 6 | 6 | 100 |
| C | i. c. e i. p. | Amostra A | 4 | 0 | 0 |
| C | i. c. e i. p. | Amostra B | 4 | 0 | 0 |
| C | i. c. e i. p. | Amostra C | 4 | 0 | 0 |
| Contrôle normal | — | Amostra C | 6 | 6 | 100 |

Depois destas experiências prosseguimos nas passagens apenas com a amostra A e abandonamos as outras duas.

2) — *Infecção espontânea nos camundongos.*

A infecção é em geral reconhecida pelo aparecimento, em camundongos normais, de uma paralisia flácida que atinge principalmente os membros posteriores, apenas um ou mesmo os dois. Não se sabe ainda qual o coeficiente de mortalidade. A doença parece ser mais comum em animais jovens, com 5 a 7 semanas de idade. Como a infecção experimental tem um período de incubação grande, é de supor que no processo natural êste ainda venha a ser maior. E' pois possível que êstes animais se infetem com menos de 21 dias, tempo em que as barreiras naturais de defesa do sistema nervoso central ainda não estão completamente formadas, tornando-os mais suscetíveis. Êste fato

não explicaria, porém, a tão pequena incidência de mielencefailite; para nós, além da hipótese de o vírus alcançar o sistema nervoso central em animais em geral com menos de 21 dias, ainda deve haver várias outras condições predisponentes desconhecidas.

Os camundongos adultos, que em grande percentagem são portadores de vírus no intestino, não se tornam mais doentes porque têm as barreiras do sistema nervoso central completamente formadas, salvo se essas defesas forem rompidas e houver ainda outras causas coadjuvantes. A inoculação intracere-

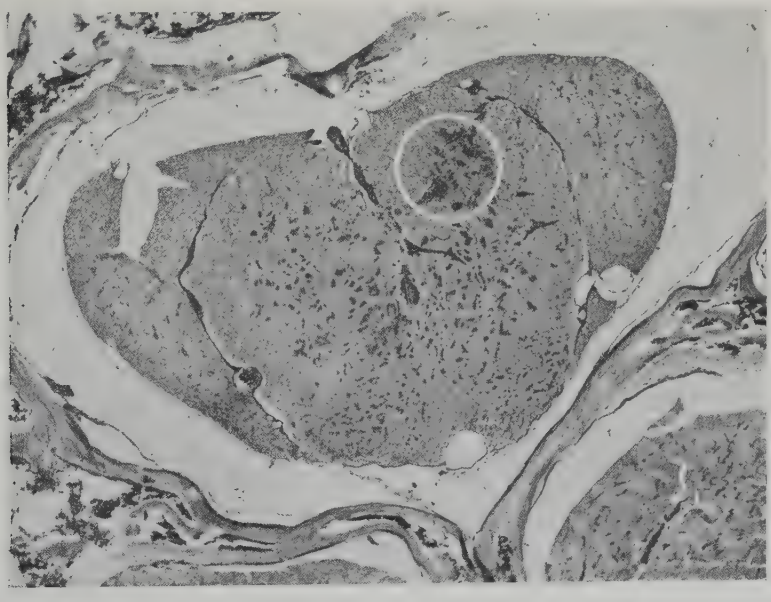


Fig. 7 — Medula de camundongo com mielencefalite espontânea. Focos de mielite no corno anterior direito (assinalado pelo círculo branco) e no corno posterior esquerdo. Hematoxilina-eosina.

Foto *J. Pinto*.

bral de goma de amido, ou um simples traumatismo com a agulha, não é motivo suficiente para que os animais tenham encefalomielite, do contrário seria quase impossível se trabalhar com camundongos quando se usasse nas experiências a via intracerebral.

Nos animais espontâneamente infetados e que apresentam paralisias, o vírus se encontra na medula em concentração maior do que no cérebro. O vírus tem sido com freqüência isolado do conteúdo e também das paredes do tubo gastrintestinal, o que nós mesmo conseguimos; êle é evidenciado nos glânglios mesentéricos e nas fezes, porém não no sistema nervoso central, glândulas salivares e outros órgãos de camundongo normal, com idade com-

preendida entre quatro e oito semanas. O vírus não é encontrado, ou apenas de forma irregular, nos animais ainda no período de amamentação e nos velhos de mais de oito semanas. THEILER e GARD (34) verificaram que a excreção do vírus pode persistir até 53 dias depois do primeiro isolamento. O cérebro, a medula, o fígado, o pulmão e o baço foram negativos, porém o tubo gastrintestinal mostrou a presença de vírus no estômago, intestino grosso e delgado e no ceco (33). EKLUND e THEILER (6) demonstraram mais tarde que, fora o intestino delgado, a única parte onde o vírus pode ser demonstrado com regularidade é nos gânglios linfáticos mesentéricos. O conteúdo do intestino parece conter mais vírus que a parede intestinal e nesta, a maior quantidade se encontra na mucosa; há mais vírus na parte superior do intestino delgado que na inferior.

3) — *Sintomatologia da doença experimental.*

Camundongos que receberam 0,03 cc. de suspensão de vírus por via intracerebral, parecem perfeitamente normais por um período que varia de 5 a 30 dias, dependendo da concentração e da amostra de vírus usada. Em seguida, pode haver uma fase prodômica em que êles se mostram menos ativos, com sinais de fraqueza e certa dificuldade no andar. Outras vêzes, e é o que se dá com mais freqüência, a paralisia surge sem êsses sintomas premonitórios. Um animal, que na véspera estava aparentemente normal, apresenta paralisia de uma ou das duas pernas traseiras, na imensa maioria das vêzes; em casos esporádicos pode ser uma ou as duas pernas anteriores as que apresentam inicialmente sintomas de paralisia do tipo flácido, ou, raramente, de forma espastica.

A progressão da doença em certos casos é muito lenta; nesta forma crônica o camundongo apresenta os primeiros sintomas em um dos membros, sobrevindo uma paralisia flácida e as pernas se encurvando para trás; quando as duas pernas trazeiras são atingidas e há progressão da doença, o animal ao caminhar utiliza apenas os membros dianteiros, arrastando o ventre no chão, dobrando as duas pernas para trás. Processa-se uma atrofia e contraturas dos membros atingidos; os ossos sofrem deformações, porém a cauda não fica paralisada. Nestes casos parece haver deformações dos ossos da bacia; os músculos da região paralisada se atrofiam muito, notando-se ademais incontinência de urina e mesmo espermatorréia. Essas formas crônicas podem progredir, havendo tetraplegia, ficando impossibilitada completamente a marcha, em seguida sobrevém caquexia e morte num prazo de 10 até 50 dias, a contar do início dos sintomas. Outras vêzes a doença não progride além da paralisia localizada em uma ou em duas pernas e o animal aos poucos vai rehavendo novamente as fôrças, ficando apenas com as seqüelas.

Em outros casos a paralisia é transitória e o animal recupera pràticamente o estado normal. Foi possível ainda observar uma forma aguda e outra superaguda. Na primeira, os animais apresentam inicialmente paralisia de ambos os membros posteriores e 24 a 48 horas depois está instalada a tetraplegia, morrendo o camundongo nas próximas 24 horas; o curso da doença é no máximo de 4 dias, sendo sempre fatal. Nos casos superagudos, ou os animais não apresentam qualquer sintoma e morrem 5 a 6 dias depois da inoculação intracerebral, ou há uma paralisia ascendente tipo Landry, com morte em 24 horas. Além da paralisia não há geralmente outros sinais.

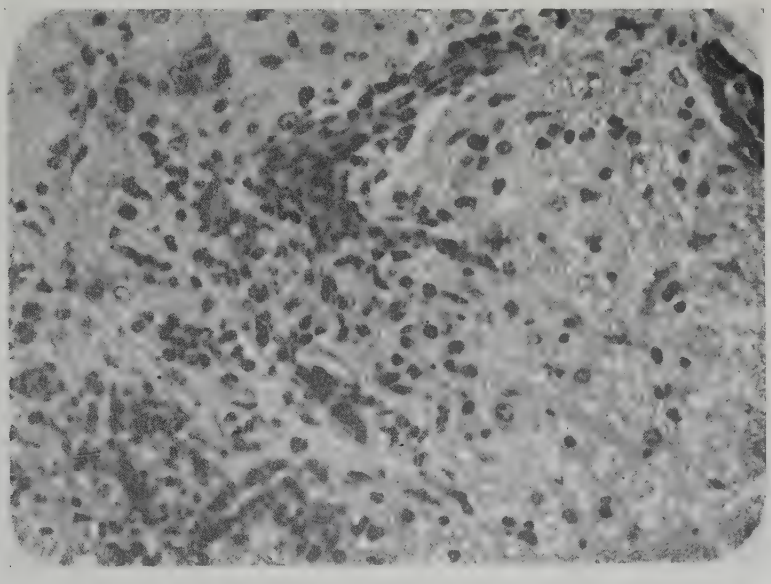


Fig. 8 — A mesma medula anterior, vendo-se um dos focos com maior aumento. Hematoxilina-eosina.

Foto *J. Pinto*.

Os animais jovens inoculados com menos de 21 dias, época normal do desmame, morrem freqüêntemente sem evidenciar sintomas de infecção. Seja qual fôr a via utilizada para a inoculação experimental do vírus, desde que apareça a doença, o quadro clínico é semelhante. De modo geral pode haver variações no período de incubação, dependendo não só da via utilizada, mas principalmente da idade do animal e da amostra do vírus; como vimos êle é menor em camundongos de 21 dias.

Segundo Dingle (4) a inoculação intracerebral de outros agentes resultou no isolamento de amostras mais virulentas do que as até então obtidas. Não foi porém possível estabelecer-se relação entre a amostra do vírus da

encefalomielite por êle isolada e os agentes inoculados (vírus da febre amarela e encefalite humana); a exacerbação de uma infecção latente parece ser a explicação mais plausível.

Fato importante a assinalar é a diversidade do quadro clínico, não só quanto ao tempo médio da incubação, como ao período médio da doença, quando se trata de amostras muito virulentas. Assim, THEILER e GARD (34) obtiveram duas amostras que, quando inoculadas por via intracerebral, apre-

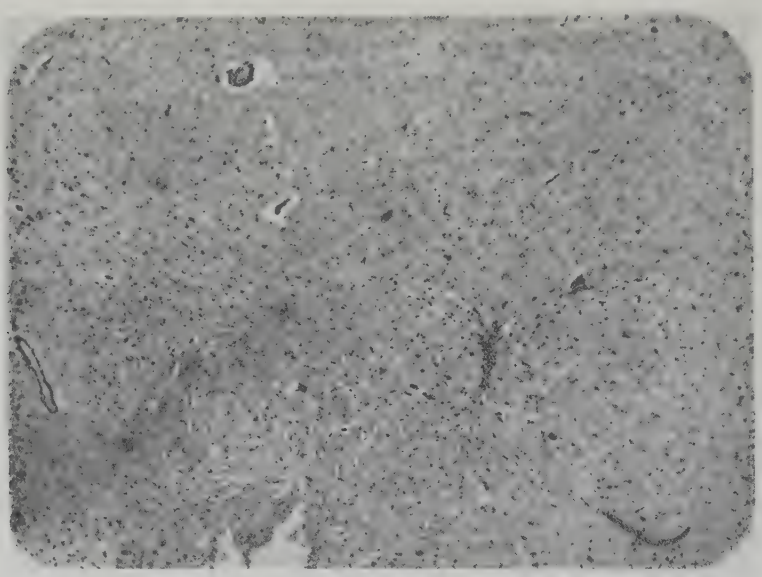


Fig. 9 — Cérebro de camundongo com mielencefalite por inoculação intracerebral. Zona de gliose com multiplicação dos núcleos neuróglicos nas proximidades do IV ventrículo.

Foto *J. Pinto*.

sentavam um curto período de incubação, de 2 a 6 dias, curso muito rápido da infecção, geralmente de 24 a 48 horas, coeficiente de mortalidade e título do vírus no cérebro mais elevado que com as demais amostras. Com a amostra GDVII, o primeiro sinal de infecção foi uma superirritabilidade mostrando que os sinais da doença estavam em relação com a medula. Com a amostra FA, os sinais de infecção que aparecem após inoculação intracerebral ou instilação nasal, assemelham-se mais aos de encefalite do que de mielite; os animais têm um aspecto de doentes, hiperexcitabilidade, eriçamento dos pêlos e convulsões tônicas que muitas vêzes terminam com a morte; paralisia das pernas é rara, entretanto após a inoculação intraperitoneal uma paralisia flácida é comumente o sinal predominante.

4) — *Caracteres físicos do material infetante*

Pela sintomatologia da doença e passagens em série nos camundongos, de emulsão de cérebro infetado, pensamos logo tratar-se de uma infecção por vírus. Tentativas de cultura foram feitas, quer em meios aeróbios quer em anaeróbios, mas os resultados foram sempre negativos, seja com medula, seja com cérebro. Esfregaços corados pelo Gram nada revelaram. Estudamos então os principais caracteres dêste material:

Fig. 10 — Cerebelo de camundongo com infecção experimental. Intensa inflamação da pia-máter, observando-se o acúmulo leucocitário e a hiperemia. Hematoxilina-eosina.

Foto *J. Pinto*.

*a*) Filtração: fizemos suspensões em água fisiológica com 10% de sôro normal de macaco, de cérebro e medulas infetadas. O material foi centrifugado alguns minutos, a fim de serem depositadas as partículas mais grosseiras, e foram feitas filtrações em velas Berkefeld, em Chamberland L3 e L5 e em filtro Seitz EK; o agente infetante atravessa-os com facilidade e conserva em geral a mesma atividade que tinha a emulsão antes da filtração.

Esta facilidade de o agente atravessar os filtros mesmo, por exemplo, Berkefeld W., sugere que o vírus é de tamanho pequeno, provavelmente com 35 mμ ou menos. Theiler (32) conseguiu filtrar em Seitz e em todos os graus do filtro Berkefeld; o diâmetro médio das partículas determinado por filtração através de membrana de colódio foi de 13 a 15 mμ sendo pràtica-

mente o mesmo da poliomielite humana. Posteriormente THEILER e GARD (34) calcularam entre 9 e 13 mμ.

*b*) Conservação: foi possível conservar o vírus em glicerina a 50% na geladeira, pelo menos durante dois meses, sem que fôssem notadas alterações na capacidade infetante do material. Êste método é, pois, um bom meio para conservação do vírus. Aliás, THEILER (32) verificou que, nestas condições, o vírus pode ser guardado pelo menos por 150 dias e é mais estável em pH 8,0 ou pH 3,3.

*c*) Ação do calor: em 29-10-43 aquecemos a 56°C por 30 minutos, em banho-maria, uma suspensão a 10% de cérebro e medula infetados. O vírus foi totalmente inativado, pois a inoculação intracerebral de 0,03 cc. em um grupo de camundongos de 21 dias não mostrou qualquer sinal de infecção, ao passo que todos os controles morreram. Mesmo à temperatura ambiente o material perde a atividade em algumas horas; camundongos inoculados com suspensão de cérebro deixada por 24 horas no laboratório, sobreviveram todos.

5) — *Caracteres biológicos do vírus*

*a*) Virulência para o camondongo.

Tratando-se de um vírus que camundongos aparentemente normais albergam em seu intestino, a virulência inicial não é muito grande. No entanto, com o decorrer das passagens do material por via intracerebral, observamos que há aumento gradual da virulência; contudo, o grau da infecção varia conforme a fonte infetante. Raramente foi possível observar camundongo doente após inoculação intracerebral de 0,03 cc. de material diluído a $10^{-5}$. Nas dosagens o título variou entre 4000 e 20000 DMM.

*b*) Vias de inoculação.

A via intracerebral é a melhor de tôdas e a única que provoca infecção com segurança. Fizemos uma experiência comparativa usando suspensão a 10% de cérebro e medula de camundongo paralítico, administrada por várias vias, em camundongos adultos com 36 dias e jovens de 21 dias. Todos os adultos inoculados por vias extraneurais receberam, cêrca de 1 hora antes da inoculação de vírus, 0,03 cc. intracerebral de emulsão a 2% de goma de amido.

Por via intracerebral inoculamos 10 adultos e 12 de 21 dias, com 0,03 cc. Todos se infetaram, tendo morrido 20 durante o período de observação (quadro n.° 3).

Por via intraperitoneal, em 12 camundongos de 21 dias, adoeceram 7, morrendo 4; êles haviam recebido 0,20 cc. Onze adultos foram inoculados

com 0,40 cc. tendo adoecido 5 e morrido dois. Se observarmos êstes resultados em conjunto veremos que em 23 animais apenas 6 morreram ou seja 26%. IGUCHI (15) obteve 50% de infecção em camundongos que receberam vírus intraperitoneal e sofreram em seguida traumatismo cerebral por inoculação de caldo. THEILER e GARD (34) produziram infecção por inoculação intraperitoneal. Fato interessante é narrado por JUNGEBLUT (16) que, trabalhando com uma amostra de vírus muito ativa, observou uma flutuação sazonal, principalmente após inoculação intraperitoneal.

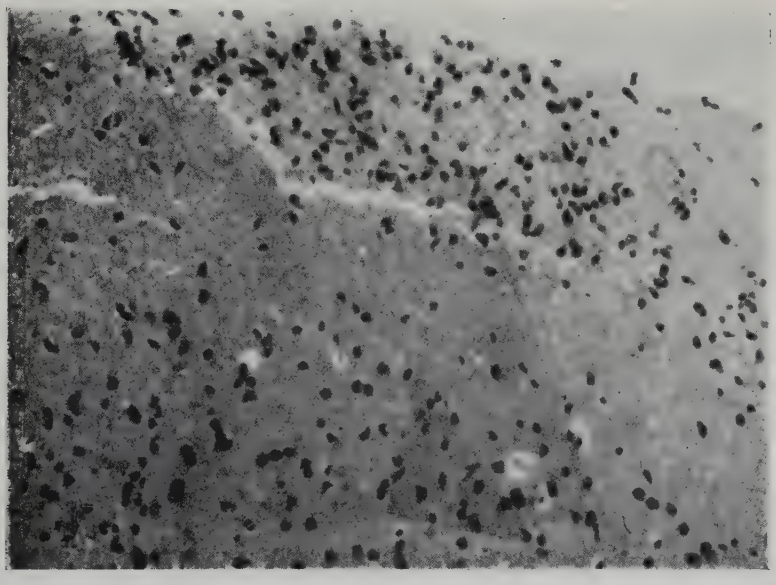


Fig. 11 — Cerebelo de camundongo com infecção experimental. Observa-se gliose da cortiça cerebelar, ao nível da primeira camada ou camada molecular. Esta região corresponde às proximidades da pia-máter inflamada, cujo aspecto histológico está enquadrado em outra microfotografia. Hematoxilina-eosina.

Foto *J. Pinto*.

Por via nasal, instilamos 0,03 cc. da suspensão de vírus, fazendo leve escoriação com a agulha; esta é introduzida alguns milímetros dentro das narinas do animal anestesiado, injetando-se o líquido lentamente. Em 24 camundongos, 18 adoeceram (75%) e morreram 12 (50%). Provàvelmente neste caso a inoculação intracerebral de goma de amido não tem influência. A infecção por instilação de vírus nas narinas se obtém com certa facilidade, pois esta via pode ser considerada como uma modalidade de inoculação neural e, se bem não esteja completamente elucidado o mecanismo de difusão do vírus, parece-nos que êle penetra diretamente pelo nervo olfativo ou pelos es-

paços linfáticos perineurais; outros caminhos podem no entanto ser tomados, como o nervo esfenopalatino ou o gânglio cervical superior.

Por fim, o vírus foi introduzido no estômago de camundongos anestesiados pelo éter, por meio de uma sonda de vidro ligada a uma seringa de tuberculina. Animais adultos receberam 0,30 cc. e os de 21 dias 0,20 cc. Os resultados foram todos negativos, não tendo os camundongos apresentado sintomas de infecção.

QUADRO N.º 3

**RESULTADOS DA ADMINISTRAÇÃO DE VIRUS POR VIA INTRACEREBRAL, INTRAPERITONEAL, INSTILAÇÃO NASAL E VIA GASTRICA EM CAMUNDONGOS ADULTOS E JOVENS**

| VIA DE INOCULAÇÃO | N.º DE CAMUNDONGOS | IDADE | QUANTIDADE DE VIRUS | GOMA I. C. | RESULTADOS | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Doentes | % | Mortos | % | * P. M. I. |
| Intracerebral | 12 | 21 dias | 0,03 cc. | N | 12 | 100 | 11 | 91,7 | 10,5 |
| | 10 | adultos | 0,03 cc. | N | 10 | 100 | 9 | 90,0 | 12,5 |
| Intraperitoneal | 12 | 21 dias | 0,20 cc. | N | 7 | 58,3 | 4 | 33,3 | 16,0 |
| | 11 | adultos | 0,40 cc. | S | 5 | 45,4 | 2 | 18,2 | 17,2 |
| Instilação nasal | 12 | 21 dias | 0,03 cc. | N | 9 | 75 | 7 | 58,3 | 15,9 |
| | 12 | adultos | 0,03 cc. | S | 9 | 75 | 5 | 41,7 | 17,1 |
| Gástrica | 12 | 21 dias | 0,20 cc. | N | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 12 | adultos | 0,30 cc. | S | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

(*) P. M. I.: período médio de incubação, em dias.

c) Influência da idade.

Nossas observações foram idênticas às de THEILER (32). Camundongos com idade variável de 1 a 7 dias morrem quase infalivelmente após a inoculação intracerebral e mesmo intraperitoneal do vírus. Êles morrem ainda dentro do período de amamentação e em geral não apresentam sinais de paralisia; nota-se porém que se alimentam mal, não estando a curva ponderal idêntica à dos filhos normais. Às vêzes verifica-se paralisia dos membros posteriores, sobrevindo a morte 24 a 48 horas depois. O tempo médio de sobrevida depois da inoculação foi cêrca de 9 dias. Em camundongos inoculados com 21 e 36 dias não se notam grandes diferenças quanto ao tempo médio de incubação e tempo médio de sobrevida. Ambas variavam, decrescendo, ao mesmo tempo que o número de passagens aumentava (quadro n.º 1).

*d*) Persistência do vírus.

Camundongos que sobreviveram à inoculação de vírus, mas apresentaram paralisia dos membros posteriores, foram sacrificados em épocas diversas, retirado o cérebro e a medula, feitas suspensões a 10% em sôro fisiológico e inoculados grupos de 6 camundongos por via intracerebral.

Assim, animais foram mortos com éter 30, 60 e 90 dias após as inoculações. Retiramos separadamente o cérebro e a medula de um camundongo paralítico de ambas as pernas posteriores, que recebera vírus intracerebral, 30

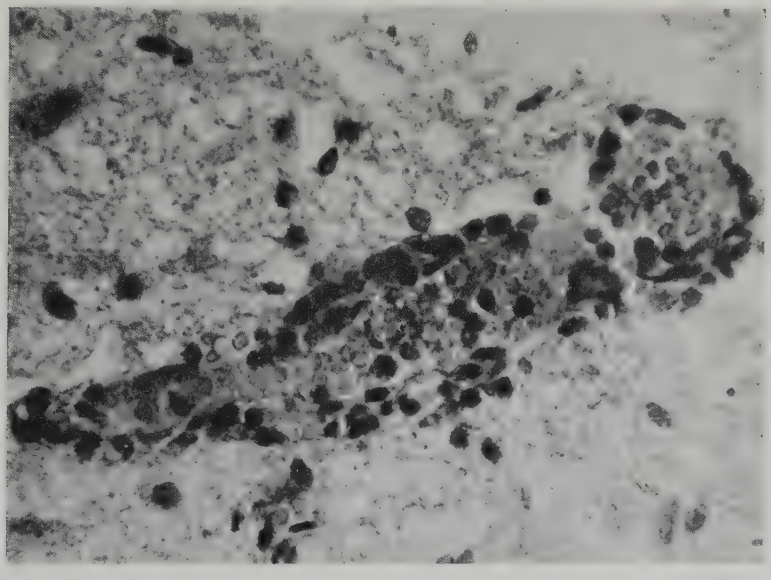


Fig. 22 — Infeção experimental em camundongo. Capilarite com hiperplasia endotelial registrada ao nível do metencéfalo.
Foto *J. Pinto*.

dias antes, e inoculamos com as suspensões feitas dois grupo de camundongos de 21 dias; dos 5 animais que receberam a suspensão de cérebro, 4 ficaram paralíticos, morrendo 2, e os 5 inoculados com medula mostraram paralisia do trem posterior, havendo duas mortes durante o período de observação.

O mesmo foi feito com outro animal paralítico, inoculado 60 dias antes. Em 5 camundongos que receberam suspensão de cérebro por via intracerebral, dois tornaram-se paralíticos e, em outros 5 inoculados com a medula, observamos 3 paralíticos, um dos quais morreu. Finalmente, retiramos o cérebro e medula de 3 camundongos inoculados a 90 dias. Como os resultados foram semelhantes damo-los em conjunto; a inoculação da suspensão de cérebro em 18 camundongos causou paralisia em 7, dentre os quais 2 morreram e a ino-

culação das medulas produziu paralisia em 9, tendo morrido 5 no prazo de observação.

Assim, pôde ser observado que tais camundongos albergam o vírus pelo menos 90 dias, quer no cérebro quer na medula. THEILER (32) já havia demonstrado que um ano após a inoculação ainda era possível o isolamento de vírus.

Fig. 13 — Região dos núcleos pontinus (Ponte de Varoli). Evidente proliferação da oligodendroglia. Edema perineuronal e perivascular. Desapareceram muitas células nervosas. Hematoxilina-eosina.
Foto *J. Pinto*.

Por outro lado, camundongos inoculados e que permaneceram aparentemente normais, quando sacrificados 30 dias depois da inoculação intracerebral, a suspensão de seu cérebro e medula inoculada em animais normais provocou infecção, mostrando a permanência do vírus. Parece que tais camundongos sem sintomatologia berrante tiveram uma infecção ligeira, clinicamente inaparente, mesmo porque quando reinoculados dificilmente se infetaram, mostrando terem adquirido certo grau de imunidade.

e) Distribuição do vírus.

No corpo de camundongos infetados por via intracerebral, encontra-se o vírus quase exclusivamente no sistema nervoso central. Não conseguimos evidenciá-lo no pulmão, fígado, baço e rim de três camundongos que morre-

ram na segunda semana pós-inoculação, com sintomas de encefalomielite; para evitarmos possíveis contaminações, retiramos primeiramente as vísceras e só depois é que foi removido o cérebro e a medula. Também o sangue obtido por punção cardíaca de dois camundongos, um no sétimo e outro no décimo quinto dia pós-inoculação e com paralisia, quando inoculado logo a seguir no cérebro de camundongos de 21 dias, não evidenciou vírus.

THEILER (32) verificou uma vez infecção no nervo ciático e também em alguns órgãos e IGUCHI (15) em um camundongo encontrou vírus nos gânglios linfáticos cervicais e no fígado. THEILER e GARD (35) mostraram que o vírus pode ser observado nas vísceras quando se usa uma amostra muito virulenta, sendo as discordâncias observadas justamente devido a diferenças de virulência entre as amostras usadas. Em geral os autores pensam que decorrido algum tempo a medula torna-se mais infetante que o cérebro; nós porém não conseguimos chegar a um resultado significativo.

*f*) Imunização dos camundongos.

Para o estudo da imunização ativa reinoculamos por via intracerebral animais que sobreviveram à inoculação inicial do vírus, com ou sem sintomas de infecção. Estas inoculações foram feitas 50 a 80 dias depois da primeira (quadro n.º 2). A grande maioria dos camundongos assim tratados permaneceu normal, demonstrando ter adquirido sólida imunidade.

Quanto à imunização de animais por via intraperitoneal e reinfecção feita por via intracerebral, já foi descrita por nós quando tratamos do isolamento e passagem em série do vírus. THEILER (32) não obteve imunidade por via intraperitoneal e apenas muito ligeira por instilação nasal; porém os camundongos paralíticos são imunes a uma subseqüente inoculação intracerebral de vírus. Mais tarde, porém, THEILER e GARD (34) obtiveram uma imunidade a uma subseqüente inoculação intracerebral, produzida pela administração de grande quantidade de vírus por via intraperitoneal e intranasal. Observamos ainda que, após uma infecção por inoculação de uma das amostras de vírus, os camundongos se mostram imunes quando reinoculados com qualquer das duas outras.

A presença de anticorpos neutralizantes foi pesquisada no sôro de 10 camundongos inoculados por via intracerebral, que apresentaram forte infecção mas puderam sobreviver; êles foram reinoculados com 0,20 cc. por via intraperitoneal, 30 dias após a primeira inoculação. Os soros foram colhidos 30 a 60 dias depois desta inoculação, por punção cardíaca, procurando-se obter o máximo possível. Fizemos provas de proteção misturando duas partes do sôro a uma parte de suspensão a 10% de cérebro de camundongo infetado; esta suspensão foi centrifugada prèviamente por 5 minutos. Os soros mistu-

rados com a suspensão de cérebro permaneceram neste contato durante uma hora na geladeira e em seguida inoculamos 0,03 cc. intracerebral em camundongos de 21 dias.

Como contrôle usamos soros de três camundongos normais, nos quais a idade correspondia mais ou menos à dos camundongos cujos soros estavam em prova. Tal fato tem real importância pois soros de camundongos velhos normais podem e costumam quase sempre apresentar maior capacidade neutralizante para o vírus da encefalomielite do que os de camundongos jovens. Assim, sangramos 10 camundongos imunizados, misturamos em um tubo de

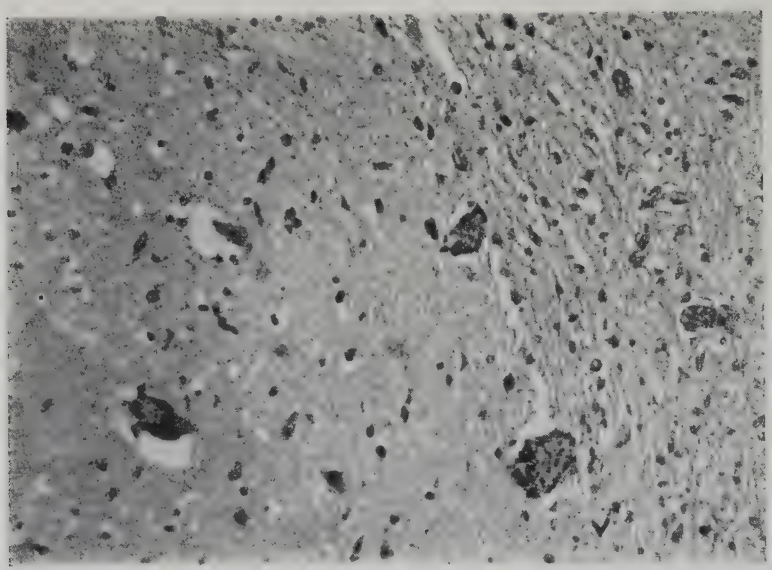


Fig. 14 — Protuberância. Hiperemia ou turgescência de pequenos vasos da protuberância anular, na zona de transição entre o pé e a calota.
Foto *J. Pinto*.

hemólise o sôro (0,4 cc.) com o vírus (0,2 cc.), e inoculamos uma hora depois um grupo de 6 camundongos para cada sôro. Dando o resultado em conjunto, verificamos que em 59 camundongos adoeceram 15, ou seja 25,4% e morreram 9, isto é, 15,2% durante os 30 dias de observação. Quanto aos controles, em 18 camundongos adoeceram 13, ou seja 72,2% e morreram 11, ou melhor, 61,1%. Ademais, o período médio de incubação dos camundongos que receberam soro imune e adoeceram foi maior que nos controles.

Não resta dúvida que há na verdade anticorpos neutralizantes no soro dos camundongos que sofreram infecção, pelo menos quando êle é colhido num período que poderíamos chamar de convalescença. Contudo o poder neutralizante do soro não nos parece ser muito grande.

*g*) Suscetibilidade de outros animais.

Em 17-11-43 sacrificamos com éter um camundongo moribundo com paralisia do trem posterior e correspondente à 12.ª passagem; retiramos o cérebro e medula, sendo parte fixado em formol e com outra parte feita suspensão a 10% em soro fisiológico. Com êste material inoculamos por via intracerebral: um macaco rhesus jovem com 0,50 cc., um coelho e uma cobaia, ambos também jovens, com 0,20 cc. Nenhum dêstes animais apresentou qualquer sintoma que pudesse ser imputado como devido ao vírus da mielencefalite, permanecendo, durante 60 dias de observação, perfeitamente normais.

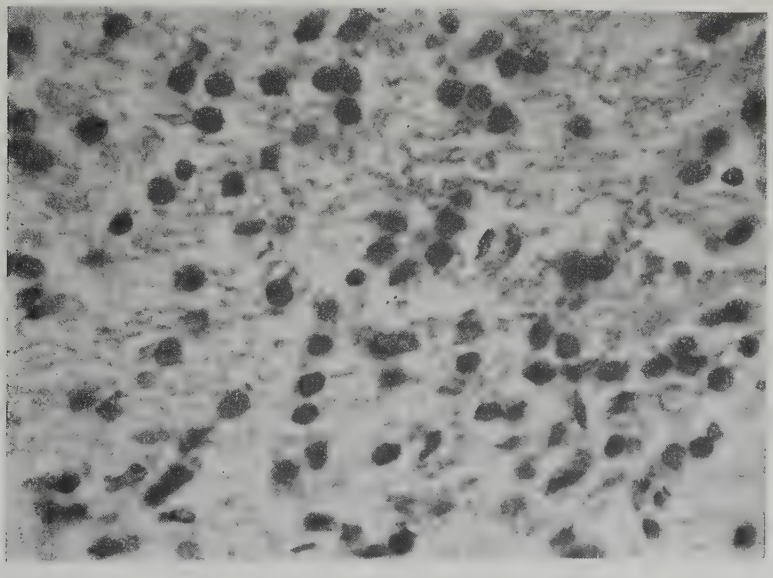


Fig. 15 — Protuberância. Área de proliferação neuróglica (esclerose ou gliose reacional) observada na calota protuberancial.
Foto *J. Pinto*.

Em 23-12-43, material oriundo de cérebro e medula de camundongos paralíticos da 14.ª passagem, foi inoculado (0,05 cc.) no cérebro de 10 ratinhos brancos de criação, recém-desmamados. O resultado foi também negativo.

6) — *Incidência da doença*

Não foi feita ainda estatística minuciosa sôbre a incidência da encefalomielite espontânea de camondongos, mas não resta dúvida que ela é sempre muito baixa. Theiler encontrou cêrca de um doente para 2.000 camundongos suiços, comprados em diversos vendedores e Olitsky (25) um a dois

por mil, o que parece uma incidência muito elevada, porém mais tarde não encontrou a infecção entre 5.000 camundongos examinados. Nós a observamos na proporção de cêrca de 1 para 4.000.

A baixa incidência não indica falta de contato com o agente infetante pois o vírus foi demonstrado no intestino de grande número (66 a 100%) de camundongos com idade compreendida entre 1 a 2 meses. THEILER (33) não observou uma influência sazonal; procurando elucidar a epidemiologia da

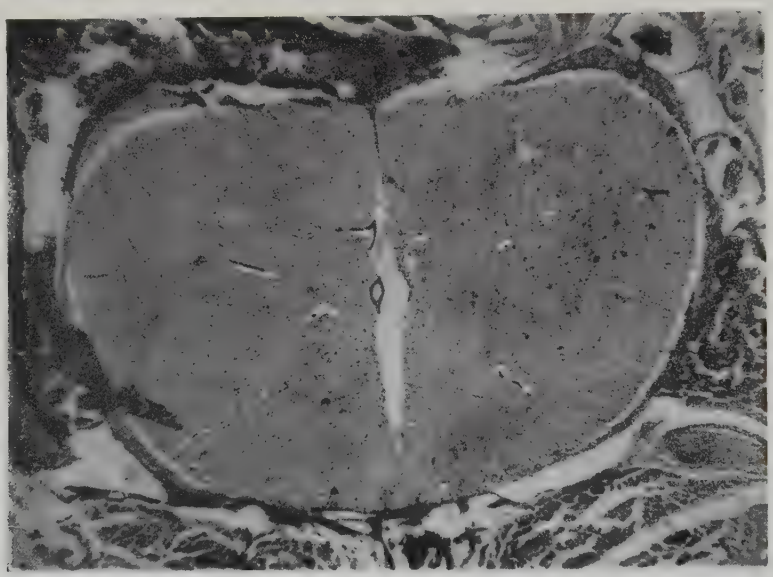


Fig. 16 — Medula. Rarefação dos neurônios dos cornos ou pontas anteriores da substância cinzenta. Hematoxilina-eosina.
Foto *J. Pinto*.

doença êle fêz uma série de experiências em que grupos de camundongos normais eram postos em contato com outros artificialmente infetados, porém sem resultado. Camundongos com infecção experimental do sistema nervoso central não são focos de infecção.

7) — *Patologia*

A base anatômica da paralisia foi descrita por THEILER (32) como uma necrose aguda das células nervosas do côrno anterior da medula e também de alguns neurônios do cerebelo. Após esta necrose há neuronofagia; THEILER observou infiltração perivascular no cérebro e medula e não encontrou inclusões. IGUCHI (15) constatou infiltração celular perivascular, acúmulos de células gliais e degeneração das células nervosas. OLITSKY e SCHLESINGER

(27) verificaram que as lesões e sua distribuição no sistema nervoso central não têm diferenças nítidas, quando a doença é produzida após inoculações por diversas vias. Em geral, a parte anterior do cérebro mostrou predominante reação mesodermoglial, enquanto a posterior assim como a medula, apresentou nítida degeneração e destruição das células nervosas.

Nossos resultados são semelhantes aos descritos por êsses pesquisadores. Estudamos outrossim as lesões encontradas no cérebro e medula de camundongo espontâneamente infetado e também em alguns que morreram com

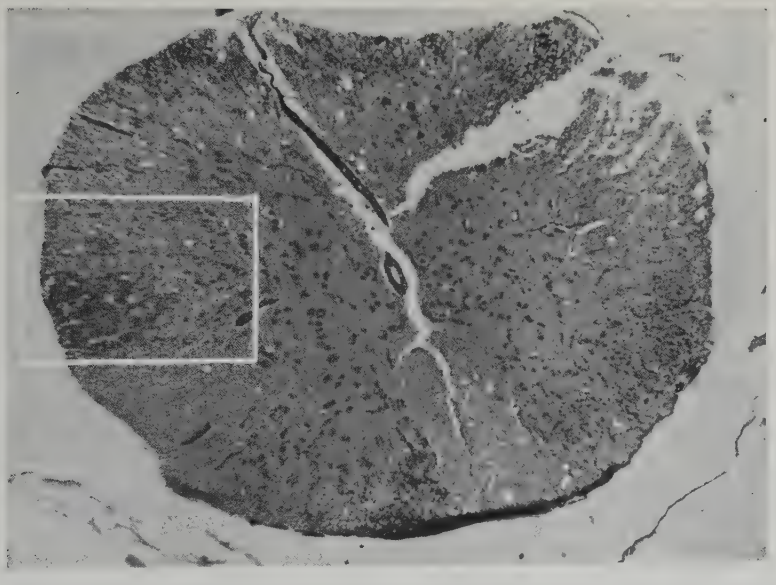


Fig. 17 — Medula de camundongo com infecção experimental. Nota-se nesta microfotografia a esclerose neuróglica cicatricial (degeneração fascicular) na periferia do cordão lateral assinalada pelo quadrado branco. No cordão posterior, em situação marginal, há pequena zona de esclerose do mesmo tipo.

Foto *J. Pinto*.

a forma aguda da infecção, após terem recebido vírus por via intracerebral. No primeiro caso, isto é, na infecção espontânea, observaram-se no tronco cerebral, em plena substância branca, numerosos focos de perivascularite; essas perivascularites eram constituídas por enorme acúmulo de leucócitos, dentro dos espaços de Virchow-Robin, na maior parte mononucleares, mostrando-se os vasos túrgidos de sangue. Eram vistos, em plena substância branca, rastilhos inflamatórios que, parece, acompanhavam o trajeto das fibras nervosas. Nódulos leucocitários foram encontrados nas vizinhanças do canal ependimário. Em plena região do hipocampo (rinencéfalo) vimos focos inflamatórios um tanto disseminados, destruindo a mais característica camada ce-

lular desta região. Nas zonas mais superficiais, especialmente na primeira camada, também chamada molecular, o processo assumiu o feitio de encefalite hemorrágica, com aspecto semelhante ao observado na encefalite hemorrágica humana da influenza. Verificamos alterações graves em uns pontos e leves em outros, dos neurônios corticais, dos núcleos da base, do tronco cerebral e a presença de produtos degenerativos e eosinófilos intracelulares nessas regiões.

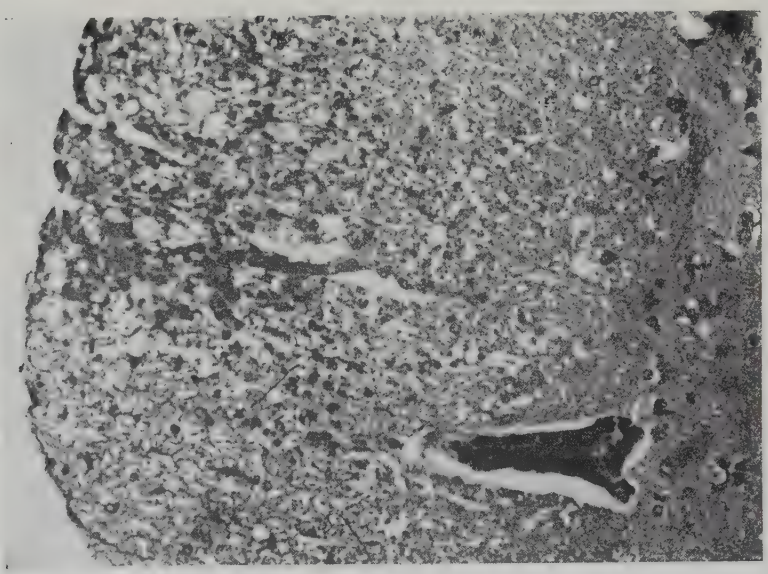


Fig. 18 — Detalhe da microfotografia anterior observado com grande aumento. Pode-se ver bem a cicatriz gliosa, os vacúolos deixados pelos tubos mielínicos desaparecidos ou degenerados e a capilarite e esclerose dos pequenos vasos. Hemotoxilina-eosina.

Foto *J. Pinto*.

O cerebelo não apresentou quase lesões; apenas registramos leves sinais de inflamação na substância branca, constituídos por afluxo leucocitário em pleno tecido nervoso e na periferia de alguns vasos. A estrutura das células e a disposição citoarquitetônica mostraram-se pràticamente normais.

Quanto à medula, o côrno anterior direito era a sede de um processo intenso de poliomielite, acompanhada de atrofia. A inflamação atingiu a quase totalidade dessa formação. Em certos cortes é evidente que o corno é muito menor que o do lado oposto e nêle as células nervosas estão reduzidas a restos. Verifica-se também que, vindo da linha mediana, penetravam neste côrno vasos com acentuada infiltração leucocitária. Os sinais inflamatórios aumentavam à medida que os vasos penetravam na substância cinzenta. Êste

fato sugere que o processo inflamatório teve origem hematógena. No outro côrno anterior, com sinais mínimos de inflamação, as células nervosas mostravam boa estrutura e eram abundantes. Os cornos posteriores também apresentaram infiltração leucocitária, porém muito leve. É evidente que muitos neurônios continham produtos degenerativos com afinidade para a eosina. Não foram encontradas inclusões.

No exame do sistema nervoso central de um animal que teve infecção aguda depois da inoculação intracerebral de vírus, observaram-se no cérebro as mesmas alterações já por nós descritas e, ainda mais, um grande foco inflamatório e hemorrágico nas proximidades do ventrículo cerebral. Verificou-se infiltração difusa nas proximidades dos vasos que penetraram na circunvolução do hipocampo. Alguns capilares que atravessam a substância cinzenta cortical estão com forte perivascularite. Os capilares da região do núcleo da base estão túrgidos de sangue. Foi notada neste camundongo a quase integridade da medula, onde existiam apenas lesões discretas. Neste caso houve uma evolução aguda da doença e os processos inflamatórios se estabeleceram tão ràpidamente que não deu tempo para lesões medulares grandes se instalarem.

Em outro animal que apresentava tetraplegia e proveniente da 12.ª passagem, observamos, além das lesões já descritas, as seguintes alterações histopatológicas: no cerebelo vêem-se zonas de hiperemia e infiltração leucocitária da pia-máter. As camadas celulares da cortiça cerebelar estão sensìvelmente conservadas. Nenhuma alteração evidente das células de Purkinje nem dos granulócitos. Em plena substância branca podemos ver muitos vasos de pequeno calibre túrgidos de sangue e cercados por manguito inflamatório. Nos cortes que secionam transversalmente êsses vasos pode-se observar a localização dos linfócitos no espaço perivascular. De modo geral os vasos da substância branca apresentam-se congestos. Em alguns pontos da substância branca cerebelar vemos os núcleos de neuroglia proliferada formando agrupamentos (grupos isogênicos de CAJAL).

Nos cortes que atingem a protuberância pode-se observar na região do quarto ventrículo extenso rastilho inflamatório no meio do qual aparecem capilares dilatados por acúmulo de sangue.

Quanto à medula, no côrno anterior as celulas motoras estão nìtidamente atrofiadas com graves sinais de degeneração. Em muitos pontos faltam mesmo numerosos neurônios. Em alguns cortes podem ver-se capilares repletos de sangue e com sinais de pericapilarite. Os fenômenos de capilarite são mais evidentes na parte lateral do côrno anterior. Em certas regiões, ao nível do côrno anterior, observamos nódulos inflamatórios com abundância de núcleos alongados, pequeninos, precisamente na zona de transição entre a substância

cinzenta e a branca. Essas células de núcleos pequeninos e alongados são certamente elementos microgliais e assinalam pontos do tecido em desintegração nervosa (zonas de fagocitose).

Por fim, ainda foram constatadas as seguintes lesões em outro camundongo oriundo da 15.ª passagem. Na profundidade da massa cerebral, próximo ao ventrículo lateral foram vistas zonas de infiltração linfocitária de formato coronal. No cerebelo vêem-se zonas de hiperemia principalmente na substância branca. Observamos no cordão lateral da medula uma zona de esclerose neuróglica em que as fibras mielínicas foram despojadas de sua bainha de lipóides (degeneração com esclerose fascicular). Nas proximidades dêste feixe degenerado, porém dentro da substância cinzenta, pode ver se um capilar cujo endotélio está entumecido e proliferado (capilarite). Na zona de transição entre a substância cinzenta e a branca, adiante do côrno anterior de um dos lados, observa-se intensa capilarite com infiltrado perivascular.

Outros exames do sistema nervoso central não mostraram diferenças com as lesões já descritas.

DISCUSSÃO

A encefalomielite dos camundongos tem sido atualmente motivo de acurados estudos. Parece não haver dúvida que a moléstia infecciosa encontrada por nós em animais de criação e causada por um vírus filtrável é idêntica à que foi descrita por THEILER. Recentemente YOUNG e CUMBERLAND (36) isolaram do intestino de camundongos normais um agente filtrável, que pensam ser o vírus da encefalomielite; verificaram que o quadro clínico produzido por inoculação intracerebral dêste vírus é em muitos casos distinto do produzido pela amostra Lansing da poliomielite, não sendo evidenciada relação imunológica entre os dois vírus. Também MELNICK (22) isolou do intestino de ratos (*Dipodomys merriami*) normais, um vírus que, por meio de testes de imunidade cruzada e de reação de fixação de complemento, mostrou-se imunològicamente idêntico ao de THEILER.

O problema magno é o estudo das relações entre o vírus da encefalomielite dos camundongos e da poliomielite humana. A princípio THEILER (32), após uma série de pesquisas, concluiu que provàvelmente não havia qualquer relação entre os dois agentes. Esta opinião foi confirmada por OLITSKY (23), que verificou não ser o vírus de THEILER inativado pelo soro antipoliomielítico, assim como o soro de camundongo com encefalomielite não neutralizou o vírus da poliomielite.

Aos poucos se foi verificando a semelhança em muitos caracteres entre a doença de THEILER e a de HEINE-MEDIN. IGUCHI (15) foi o primeiro que disse serem os sintomas, o curso da doença, as modificações patológicas do

cérebro e da medula dos camundongos e sua localização muito semelhantes aos da infecção humana; denominou mesmo a enfermidade, de poliemielite dos camundongos (14). Em ambas as infecções observa-se paralisia flácida das extremidades e rápida atrofia muscular seguida de contraturas e deformidades. A inflamação do côrno anterior, seguida de atrofia dessa região medular, muita semelhança tem com a doença de HEINE-MEDIN.

Por outro lado, quando se estudam as doenças do ponto de vista epidemiológico, o interêsse torna-se maior. A distribuição geográfica é em ambas ubiqüitária; a encefalomielite já foi assinalada na Alemanha por GILDEMEISTER e ÄHLFELD (13), no Japão por IGUCHI (14), na Palestina por KLINGER (18) e agora no Brasil por nós, sendo esta a primeira verificação feita na América do Sul. Aos poucos foram surgindo novas semelhanças clínicas e epidemiológicas; assim, em ambas os jovens são atacados de preferência e a resistência à infecção aumenta com a idade. Tanto na encefalite dos camundongos como na poliomielite humana, a infecção por contato não perece provável.

É interesante o fato de a presença de vírus ser muito freqüente no intestino dos camundongos, sendo excretado pelas fezes durante longo período; o mesmo fato tem-se assinalado no homem.

O estudo comparativo entre as duas doenças tornou-se mais fácil depois que Armstrong (1) conseguiu infetar certos ratos (*Sigmodon hispidus hispidus*) e em seguida camundongos (2) com uma amostra de vírus da poliomielite humana. Esta produz uma polioencefalomielite (19 e 20) e as duas doenças no camundongo são clìnicamente indistinguíveis.

Theiler (33) reviu cuidadosamente as relações entre os dois vírus e observou que o da encefalomielite não é patogênico para o macaco, o qual não se torna imune para a poliomielite; não havia, ou era muito ligeira, a neutralização do vírus de Theiler pelo sôro de macaco imune para a poliomielite, ou pelo sôro de rato ou macaco imunizado com a amostra Lansing; ademais, o sôro de camundongo imune para encefalomielite e que contém anti-corpos, não neutraliza o vírus de Lansing. Não há imunidade cruzada. Em oposição a êstes resultados negativos êle demonstrou que as amostras mais virulentas de encefalomielite produzem uma doença com paralisia em certos ratos, que é pràticamente indistinguível da causada pela amostra Lansing da poliomielite. Os ratos e camundongos que ficam paralíticos, mas sobrevivem à inoculação intracerebral do vírus de camundongo, são resistentes à poliomielite, porém esta resistência não parece ser específica, porque depende da presença de paralisias. Além disso, as passagens sucessivas da amostra Lansing em camundongos produzem uma amostra de vírus que é patogênica para o camundongo, levemente patogênica para o rato e não patogênica para o macaco,

assemelhando-se agora êste vírus atenuado da poliomielite humana ao da encefalomielite de Theiler. A mesma espécie de ratos que foi usada para poliomielite, mostrou-se suscetível ao vírus de Theiler e os animais sobreviventes a esta inoculação feita por via intracerebral, resistem à inoculação com a amostra Lansing.

Jungeblut (16) conseguiu também infetar ratos (*Sigmodon hispidus*) com o vírus de Theiler, fazendo muitas passagens, tendo verificado que o vírus se torna fixo para êste novo hospedador e adquire outras propriedades biológicas, sendo possível então infetar cobaias e macacos rhesus. Êle pensa que tanto o vírus da poliomielite humana, como o da encefalomielite dos camundongos, originam-se de um tronco primitivo comum de vírus. Propõe o têrmo de "grupo poliomielítico" para designar as amostras humana e dos roedores. Já anteriormente Jungeblut, Sanders e Feiner (17) assinalaram relações sorológicas entre o vírus murino SK da poliomielite e o vírus de Theiler devido à capacidade do soro antimurino e do soro antipoliomielítico de cavalo neutralizar o vírus da encefalomielite espontânea. Verificaram também que a infecção prévia com o vírus de Theiler deixa os sobreviventes com uma relativa ou absoluta resistência à reinfecção com o mesmo vírus, mas não com outras amostras de vírus da poliomielite.

Assim como na poliomielite humana, se bem que ainda não se possa dizer com precisão qual a via de penetração do vírus, tudo leva a crer que ela se dê não só por via nasal como, e principalmente, por via gastrintestinal.

O vírus é encontrado com freqüência nas fezes e nas paredes do intestino de camundongos sadios, mas o mecanismo pelo qual êle consegue atingir o sistema nervoso é ainda obscuro. A presença aí do vírus mostra apenas que o tubo digestivo é um local de proliferação, mas não que seja obrigatòriamente uma porta de entrada. É possível que traumatismos ou outros processos lesivos da mucosa gastrintestinal de camundongos jovens facilitem a disseminação do vírus, que alcança o sistema nervoso através, por exemplo, dos nervos simpatícos. Theiler (33) não conseguiu demonstrar a presença de vírus na mucosa nasal; êle pensa que a infecção do SNC não seja devido a uma menor ou maior virulência, mas a um acidente ocorrido cedo na infecção do intestino delgado.

Apesar de se ter nestes últimos anos indicado a via nasal como a mais comum para penetração do vírus da poliomielite no homem, na verdade não houve uma prova concludente desta afirmativa. Estudos de Sabin (30) feitos em 13 casos de poliomielite humana não mostraram as alterações patológicas que foram observadas no bulbo olfativo de macacos que morreram após instilação nasal do vírus; além disso, não se conseguiu isolar vírus do bulbo olfativo de 5 casos humanos nos quais êle foi isolado de outros tecidos, o que se

torna uma séria evidência contra a teoria de que a via olfativa é a porta de entrada comum. Na verdade até o momento não há um prova conclusiva pró ou contra uma determinada via de acesso, seja a respiratória, seja a digestiva. tanto para a poliomielite humana como para a encefalomielite dos camundongos.

Se bem que os bulbos olfativos sejam suscetíveis ao vírus, não nos parece ser esta a via mais freqüente de penetração. Na poliomielite o faringe é, fora do sistema nervoso, um dos principais locais onde o vírus pode ser encontrado; se bem que na encefalomielite o vírus já tenha sido evidenciado no faringe, não é entretanto tão constante a sua presença como no intestino.

THEILER e GARD (35) pensam que a produção de anticorpos devido à infecção do intestino possa ser responsável pelo aumento de resistência que se verifica nos camundongos velhos. Assim, também a poliomielite humana é uma doença tão mais freqüente entre as pessoas jovens que se denomina mesmo de paralisia infantil. Êste aumento de resistência pode ser devido a uma prévia infecção inaparente, capaz de produzir imunidade ou então a um completo desenvolvimento das barreiras fisiológicas, as quais servem para deter uma progressão centrípeta do vírus de um ponto periférico.

Na doença de THEILER o mecanismo protetor contra o vírus, o aumento de resistência com a idade, deve ser sempre uma forma específica de imunidade latente que é adquirida por contato prévio com o vírus. Como desde muito jovens já os camundongos podem ser portadores de vírus no intestino, deve se produzir aos poucos uma imunidade que é suficientemente forte para proteger camundongos velhos, permitindo porém que os animais jovens ainda sejam de uma maneira mais ou menos uniforme suscetíveis à infecção. Êste mecanismo protetor local é também averiguado pela incapacidade de se produzir infecção por administração de vírus por via gástrica mesmo em animais recém-desmamados. Se bem que camundongos velhos possam ser infetados particularmente com amostras muito virulentas, são necessárias doses maciças de vírus diretamente no sistema nervoso central.

O vírus poderia invadir o corpo partindo do intestino, pelos vasos linfáticos, indo aos gânglios mesentéricos; THEILER (33) pensa que tal fato mostra, pelo menos durante um período de infecção, que o vírus é capaz de invadir o organismo animal e provàvelmente agir como um antígeno para a produção de anticorpos.

Os processos de penetração do vírus e certas propriedades devem ser semelhantes ainda às observadas na poliomielite humana. Nesta já se averiguou que o vírus penetra ao longo das fibras nervosas para o sistema nervoso central e que o cilindro-eixo e não as bainhas ou "os espaços linfáticos perineurais" jogam o maior papel neste processo de disseminação. Experiências

de HOWE e BODIAN (13) com o vírus da poliomielite mostraram que êle não é apenas neurotrópico, isto é, possuidor de uma predileção para os tecidos nervosos, mas altamente neurocitotrópico ou neuronotrópico, tendo afinidades seletivas para o próprio neurônio. O principal papel na disseminação do vírus é jogado pela via neurônica e uma vez alcançado o sistema nervoso central a progressão se dá do ponto de entrada para as regiões suscetíveis, especialmente os centros motores do metencéfalo e da medula, onde se vêem os maiores efeitos da reação entre o vírus e o hospedador.

A relação entre a gravidade das alterações histológicas e a concentração do vírus não é estritamente proporcional, mas geralmente há uma correspondência entre a distribuição de lesões no sistema nervoso e a distribuição do vírus, o que permite uma boa análise das vias de disseminação por meio de pesquisas histológicas. Na progressão de centro a centro o vírus parece preferir as cadeias curtas de neurônios como sendo melhor via do que o sistema de fibras nervosas longas.

A semelhança dos processos histopatológicos, verificada na medula e no cérebro de nossos camundongos, com a poliomielite humana é muito grande. A denominação de poliomielencefalite murina nos parece a mais precisa. Diferenças nas distribuições de lesões dependem da porta de entrada, se bem que o quadro patológico no final da maioria dos casos seja idêntico.

HOWE e BODIAN (13) em estudos feitos em macacos com o vírus da poliomielite, mostraram que a suscetibilidade de várias partes do sistema nervoso é geralmente independente da porta de entrada. A disseminação do vírus no cérebro, mesmo em casos fulminantes foi limitada pela resistência de certos centros como a córtex estriada e o corpo geniculado lateral e também pela inacessibilidade de dados centros, os quais não são necessàriamente imunes mas geralmente não são atingidos por concentrações efetivas de vírus.

Os vírus isolados por nós do cérebro e medula de dois camundongos paralíticos e dos intestinos e fezes de camundongos normais, mostraram nos testes de imunidade cruzada serem idênticos. Ademais, produzem uma encefalomielite em tudo semelhante à descrita por THEILER. Assim, fora da inoculação intracerebral em animais adultos, apenas a via nasal produz uma infecção regular, sendo que a via intraperitoneal dá resultados variados e inconstantes. As lesões histopatológicas são semelhantes; a inoculação em cobaia, coelho, macaco e em rato branco de laboratório, não produz infecção. As leves dissemelhanças existentes podem ser explicadas por diversidade nas amostras de vírus.

O quadro clínico e a marcha da infecção produzida por inoculação intracerebral do vírus da encefalomielite permite diferençá-lo de outros microrganismos capazes de produzir processos de encefalite, como o causador da

encefalomielite eqüínea e da coriomeningite linfocítica; êle se distingue também do vírus da meningopneumonite aguda (8) não só por que êste é muito maior mas também pelas diferenças dos processos patológicos em camundongos, assim como sua patogenicidade para o macaco.

## SUMÁRIO E CONCLUSÕES

1) — Duas amostras de vírus capazes de produzir uma mielencefalite foram isoladas de dois camundongos brancos suíços, de criação, espontâneamente infetados, em um total de 7.000 animais examinados; uma terceira amostra foi obtida por trituração e filtração dos intestinos de camundongos aparentemente normais.

2) — Foram feitas separadamente dez passagens por inoculação intracerebral em camundongos jovens e adultos. Verificou-se por testes de imunidade cruzada que as três amostras eram idênticas. Prossegiu-se então nas passagens com apenas uma das amostras.

3) — O poder infetante aumenta com o número de passagens: o período médio de incubação diminui e aumenta a letalidade.

4) — A infecção espontânea e experimental é descrita. A doença parece ser mais comum em animais jovens. O período de incubação varia de 5 a 30 dias. Às vêzes observa-se uma fase prodrômica: fraqueza, menor atividade, dificuldade em andar; geralmente surge a paralisia flácida sem sintomas prévios, na grande maioria das vêzes, nos membros posteriores. Três formas clínicas foram observadas: super-aguda, aguda e crônica.

5) — Em camundongos normais o vírus pode ser demonstrado nas fezes e nos intestinos. Êle é comum no tubo digestivo e só ocasionalmente invade o sistema nervoso central, ou melhor, a encefalomielite é primàriamente uma doença do trato digestivo no qual a invasão do SNC é um acidente.

6) — O vírus passa através de velas de CHAMBERLAND L3 e L5, em BERKEFED V, N e W e em filtro Seitz EK, a suspensão sendo tão ativa como antes da filtração. Conserva-se bem em glicerina a 50% pelo menos 60 dias, se guardado na geladeira. Suspensão de cérebro e medula aquecida em banho-maria a 56°C por 30 minutos perde a atividade.

7) — O título variou entre 4.000 e 20.000 dmm.

8) — Obteve-se infecção por inoculação intracerebral, por instilação nasal e, com menos regularidade, por inoculação intraperitoneal; a via gástrica deu sempre resultados negativos. Camundongos muito jovens são mais suscetíveis do que os adultos.

9) — O vírus foi sempre isolado até 90 dias pós-inoculação, do cérebro e da medula de camundongos com paralisia. Animais inoculados por via i.c., que permaneceram aparentemente normais, albergam o vírus no cérebro pelo menos durante 30 dias.

10) — Não foi possível isolar virus do fígado, pulmão, baço, rim e sangue de camundongos infetados por via intracerebral.

11) — Camundongos que foram inoculados por via i.c. e não apresentaram sintomas de infecção, mostraram-se em geral imunes a uma posterior inoculação de vírus. Os soros de animais convalescentes apresentam anticorpos neutralizantes verificados por provas de proteção.

12) — A inoculação intracerebral do vírus em macaco, coelho, cobaia e rato, todos jovens, não produziu infecção.

13) — As lesões encontradas foram de poliomielencefalite aguda, com atrofia do côrno anterior da medula. Ao nível da substância cinzenta medular e cerebral encontram-se abundantes focos inflamatórios, com predominância de mononucleares, bem como em tôrno de numerosos vasos. Em certos pontos do cérebro, sobretudo no rinencéfalo, foram vistos focos extensos de encefalite hemorrágica. É evidente que em tôrno do foco e participando das infiltrações celulares, muitos elementos microgliais puderam ser reconhecidos. As meninges, especialmente a pia-máter, mostraram-se levemente alteradas e assim mesmo em focos esparsos.

14) — O cerebelo foi o órgão nervoso que se mostrou menos afetado. Lesões naturalmente na dependência da toxi-infecção, foram observadas aí. A pia-máter e a substância branca dêste órgão também foram sede de lesões congestivo-inflamatórias, bem como a substância que forma o soalho do quarto ventrículo.

15) — Lesões degenerativas foram encontradas nos neurônios da cortiça cerebral, mas é fora de dúvida que as células nervosas da ponta anterior da medula apresentaram as mais graves alterções regressivas. As alterações inflamatórias focais e as degenerativas da ponta anterior lembravam as encontradas na poliomielite anterior aguda ou enfermidade de Heine Medin. Esta semelhança era ainda reforçada pelo fato de o côrno anterior da medula murina apresentar-se evidentemente atrofiado em conseqüência do processo inflamatório e do desaparecimento de numerosos neurônios radiculares. É preciso realçar também que num animal encontramos a degeneração de um feixe do cordão lateral, o qual se achava esclerosado e que pela sua sede deve ser o feixe piramidal cruzado. A degeração dêste feixe pode ser explicada seja pela lesão traumática da inoculação, o que é mais provável, seja pela inflamação cerebral.

16) — Parece que o vírus encontrado em nossos camundongos é perfeitamente idêntico ao descrito por THEILER na encefalomielite espontânea dêstes roedores.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

1) — Two strains of virus which produce myeloencephalitis were isolated from two white swiss mice, from breeding, spontaneously infected, among 7000 mice examined; another strain was obtained by trituration and filtration of the intestines of normal mice.

2) — There were made separately ten serial passages in young and adult mice by intracerebral route. By crossed immunological test it was verified that the three strains were identical, and so only one was continued.

3) — The infective power grows with the number of passages: the average incubation period diminishes and the mortality ratio increases highly.

4) — The spontaneous and experimental disease is described. The infection is more commonly among young mice. The average incubation period varies from 5 to 30 days. Sometimes it is possible to observe a prodromal period: weakness, smaller activity, difficulty of locomotion; generally there appears a flacid paralysis without previous symptoms, most commonly on the hind legs. Clinical forms: superacute, acute and chronic.

5) — In normal mice virus can be demonstrated in the feces and also in the walls of the intestine. The virus appears to be a common inhabitant of the alimentary tract and only occasional invader of the central nervous system, in other words, the encephalomyelitis is primarily an alimentary tract disease in which invasion of the nervous system is only an occasional incident.

6) — The virus is filtrable by Chamberland L3 and L5, Berkefeld V, N and W and Seitz EK; the suspension is as active as before filtration. It will keep well at frigo at least during 60 days in glycerine at 50%. Brain and cord suspensions when heated in hot bath at 56°C by 30 minutes, lost their activity.

7) — The title has varied between 4.000 to 20.000 M. L. D.

8) — Infection was obtained by intracerebral inoculation, nasal instillation and, with less regularity, by intraperitoneal inoculation; the gastric route was always negative. Very young mice are more susceptible than adult ones.

9) — Virus was always isolated up to 90 days post-inoculation from brain and spinal cord of mice with paralysis. Animals inoculated through intracerebral route, which remain apparently normal, keep the virus in the brain at least during 30 days.

10) — It was not possible to find virus in the lungs, liver, spleen, kidneys and blood of mice inoculated intracerebrally.

11) — Mice which received virus by intracerebral route and did not show symptoms of infection, generally were immune to another administration of virus. The convalescent mice sera showed positive protection test.

12) — Young rhesus, rabbit, guinea pigs and rats, inoculated intracerebrally with relatively large doses of encephalomyelitis virus failed to show symptoms referable to the virus.

13) — Lesions of acute poliomyeloencephalitis, with atrophy of the anterior horn of cord, were found. At the level of grey substance of the spinal cord and brain we found a considerable number of inflammatory foci, at all times mononuclears predominate in the infiltration and around the numerous vessels. In certain parts of the cerebrum, especially in the rinencephalus, extensive foci of hemorragic encephalitis were found. It is evident that around the focus and affected by cellulars infiltration many microglials elements could be traced. The meninges, especially the piamater, showed a slight alteration, and even so in separate foci.

14) — The cerebelum was the nervous organ which showed to be the least affected. Insignificant lesions, resulting from the toxi-infection, were observed in this point. The piamater and the white substance of this organ also presented inflammatory and congestive lesions, as well as the substance of the floor of fourth ventricle.

15) — Degenerative changes were found in the nervous cells of the cerebral cortex, but there is no doubt that the nervous cells in the anterior horns of the spinal cord showed the most serious regressive alterations. The focal inflammatory changes and the degenerative alterations of the anterior horns resemble those found in the human acute anterior poliomyelites or Heine-Medin disease. This resemblance is still increased by the fact that anterior horn of the cord of the mouse is shown to be evidently atrophied in consequence of the inflammatory process and the disappearance of numerous radicular neurons. It most be pointed out that we found in one animal degeneration of the lateral funiculus, which was esclerosed and, by its localization must be the crossed pyramidal tract. The degeneration of this tract can be explained either by traumatic lesion caused by the inoculation which is more probable, or by the central inflammation.

16) — It seems that the virus, found in our mice is exactly identical to the one described by Theiler in the spontaneous encephalomyelitis of these rodents.

## BIBLIOGRAFIA

1. Armstrong, C.

1939. The experimental transmission of poliomyelitis to the eastern cotton rat, Sigmodon hispidus hispidus. Pub. Health Rep., 54 : 1719-1721.

2. Armstrong, C.

1939. Successful transfer of the Lansig strain of poliomyelitis virus from the cotton rat to the white mouse. Pub. Health Rep., 54: 2302-2305.

3. Bourdillon, J.

1941. Analytic diffusion of mouse encephalomyelitis virus. J. Gen. Physiol., 25 : 263-273.

4. Dingle, J. H.

1941. Encephalomyelitis of mice. Biology of the laboratory mouse, By the Staff of the Roscoe B. Jackson Memorial Laboratory, 443-448.

5. Dunham, W. B. e Parker, S.

1943. Cultivation of the virus of mouse encephalomyelitis (Theiler's virus). J. Bact., 45 : 80.

6. Eklund, C. e Theiler, M.

Citado por Theiler (32).

7. Findlay, G. M.

1939. Variation in viruses. Handbuch der Virusforschung. Herausgegeben von Prof. Dr. R. Doerr und Prof. Dr. Hallauer, Zweite hälfte, 892.

8. Francis, T. Jr. e Magill, T. P.

1938. An unidentified virus producing acute meningitis and pneumonitis in experimental animals. J. Exp. Med., 68 : 147-160.

9. Gahagan, L. e Stevenson, L. D.

1941. A strain of virus producing meningo-encephalomyelitis in mice, with special reference to pathogenesis. J. Infect. Dis., 69 : 232-237.

10. Gard, S.

1940. Encephalomyelitis in mice; methods for measurement of virus activity. J. Exp Med., 72 : 69-77.

11. Gard, S. e Pedersen, K. O.

1941. Purification of virus of mouse encephalomyelitis (Theiler's virus). Science, 94 : 493-494.

12. Gildemeister, E. e Ahlfeld, I.

1938. Über eine bei der weissen Maus spontanen aufgetretene Meningo-Enzephalomyelitis. Cent. Bact. Orig., 142 : 144-148.

13. Howe, H. A. e Bodian, D.

1942. Neural mechanisms in poliomyelitis. Commonwealth Fund, New York.

14. Iguchi, M.

1938. Citado por Iguchi (15). Saikingaku Zasshi, 509 : 481.

15. Iguchi, M.

1939. On the spontaneous encephalomyelitis of mice and its virus. Kitasato Arch. Exp. Med., 26 : 56-78.

16. Jungeblut, C. W.

1943. Biological changes in Theiler's virus of spontaneous mouse encephalomyelitis. Am. J. Pub. Health, 33 : 1227-1243.

17. Jungeblut, C. W., Sanders, M. e Feiner, R. R.

1942. Studies in rodent poliomyelitis. I. Further experiments with the murine strain of SK poliomyelitis virus. J. Exp. Med., 75 : 611-629.

18. Klinger, I. J.

Citado por Olitsky (25).

19. Lillie, R. D. e Armstrong, C.

1940. The pathology of poliomyelitis experimental induced in the eastern cotton rat, Sigmodon hispidus hispidus. Pub. Health Rep., 55 : 115-119.

20. Lillie, R. D. e Armstrong, C.

1940. Cerebrospinal pathology of experimental poliomyelitis in the eastern cotton rat, Sigmodon hispidus hispidus, and the white rat, Mus musculus. Pub. Health Rep., 55 : 718-725.

21. Melnick, J. L.

1942. Concentration of dilute solution of virus of mouse encephalomyelitis by pervaporation and ultracentrifugation. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 49 : 553-557.

22. Melnick, J. L.

1943. Detection of the virus of mouse encephalomyelitis in the intestines of normal kangaroo rats. J. Immunol., 47 : 231-236.

23. Olitsky, P. K.

1939. Viral effect produced by intestinal contents of normal mice and of those having spontaneous encephalomyelitis. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 41 : 433-437.

24. Olitsky, P. K.

1940. Agent in intestines of normal mice which induces encephalomyelitis; further studies. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 43 : 296-300.

25. Olitsky, P. K.

1940. A transmissible agent (Theiler's virus) in the intestines of normal mice. J. Exp. Med., 72 : 113-127.

26. Olitsky, P. K.

1940. Immunological studies on intestinal Theiler's virus and its relation to poliomyelitis virus. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 45 : 339-343.

27. Olitsky, P. K. e Schlesinger, R. W.

1941. Histopathology of central nervous system of mice infected with virus of Theiler's disease (spontaneous encephalomyelitis). Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 47 : 79-83.

28. Olitsky, P. K. e Schlesinger, R. W.

1941. Virus of spontaneous encephalomyelitis found in intestines of normal wild gray mice. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 47 : 101-103.

29. Reed, L. J. e Muench, H.

1938. A simple method of stimating fifty per cent endpoints. Am. J. Hyg., 27 : 493-497.

30. Sabin, A. B.

1940. The olfactory bulbs in human poliomyelitis. Am. J. of Dis. of Children, 60 : 1313-1318.

31. Theiler, M.

1934. Spontaneous encephalomyelitis of mice — a new virus disease. Science, 80 : 122-123.

33. Theiler, M.

1937. Spontaneous encephalomyelitis of mice, new virus disease. J. Exp. Med., 65 : 705-719.

32. Theiler, M.

1941. Studies on poliomyelitis. Medicine, 20 : 443-462.

34. Theiler, M. e Gard, S.

1940. Encephalomyelitis in mice; characteristic and pathogenesis of virus. J. Exp. Med., 72 : 49-67.

35. Theiler, M. e Gard, S.

1940. Encephalomyelitis in mice; epidemiology. J. Exp. Med., 72 : 79-90.

36. Young, L. E. e Cumberland, M. C.

1943. The mouse-adapted Lansing strain of poliomyelitis virus. III. Comparison with a strain of mouse encephalomyelitis virus isolated from the intestines of normal mice. Am. J. Hyg., 37 : 216-224.

# Sôbre a existência na baía do Rio de Janeiro de uma Aranha do Mar originária do Oceano Pacífico: Libinia rostrata Bell, 1835; Majidae, Decapoda (*)

por

Lejeune P. H. de Oliveira

(Com 3 estampas)

No gênero *Libinia* Leach há uma espécie caracterizada logo à primeira vista por possuir o mero do quelípodo armado, isto é, apresentando fileiras longitudinais de tubérculos espinhosos. Esta espécie é a *Libinia rostrata* Bell 1835, existente no Oceano Pacífico, litoral do Peru. As demais espécies ficam grupadas à parte (espécies que possuem o mero do quelípodo liso, desarmado) sendo que destas assinalamos em 1940, aqui no Rio de Janeiro a *Libinia spinosa* M. Edwards.

Em 1925, M. Rathbun estudou um exemplar de *Libinia* (das do grupo de mero armado) capturado no Brasil por T. B. Wilson, exemplar existente no Museu de Filadelfia. Rathbun classificou-o no grupo de *L. rostrata*, identificando-o com probabilidade a esta espécie, deixando contudo à página 330 de seu trabalho de 1925 uma nota sôbre êste espécime: "Notes on a specimen from Brazil in the Museum at Philadelphia". Tivemos oportunidade de capturar material na ilha do Pinheiro, Bahia do Rio de Janeiro, que identificamos a espécie *Libinia rostrata*. Êste material apresenta, contudo, alguns caracteres que permitem colocá-lo em uma variedade à parte. O quadro abaixo resume os principais caracteres diferenciais da nova variedade *Libinia rostrata* var. *bellicosa* (1).

*LIBINIA ROSTRATA* Bell 1835 variedade *BELLICOSA*, nova variedade (Estampas 1, 2, 3)

DESCRIÇÃO

Carapaça convexa, com espinhos e tubérculos. Vista pela face dorsal (e não considerando o rostro) tem o seguinte contôrno: uma semicircunferência VWX (fig. 3, est. 2) terminando nos pontos onde se inserem as espinhas

(1) *bellicosa* — belicosa, inclinada a lutar contra as outras espécies de crustáceos.

(*) Trabalho da Estação de Hidrobiologia do Instituto Oswaldo Cruz.

* Recebido para publicação a 14 de fevereiro e dado à publicidade em fevereiro de 1944.

| *LIBINIA ROSTRATA* Bell, 1835 | Espécime existente no Museu de Filadélfia. | *LIBINIA ROSTRATA* var. *BELLICOSA* nova variedade. |
|---|---|---|
| Quelípodo forte, grosso, duas vezes maior que o comprimento do corpo. Dentículos no dáctilo. | Quelípodo pouco maior que o comprimento do corpo. | Quelípodo (com pinça alongada frágil) fino, menor que o comprimento do corpo. Sem dentículos no dáctilo. |
| Região gástrica anterior com uma carreira de 5 espinhos. | | Idem, Atraz da espinha mediana há uma espínula. |
| Na linha mediana as I e II espinhas formam com mais duas espinhas laterais uma cruz. | Possui seis espinhas, das quais três formam um triangulo. | A II espinha mediana tem duas espínulas, uma a direita e uma a esquerda, formando um triangulo. |
| V espinha na região cardíaca. | IV espinha na região cardíaca, V espinha substituída por um tubérculo crateriforme. | |
| VI espinha na região intestinal. | V espinha na região intestinal. | |
| Espinha preocular pouco agúda. | Espinha preocular agúda | Espinha preocular pontuda para cima (a 45° da direção do rostro). |
| 11 espinhas no mero: 3 na aresta superior. 4 na aresta interna. 4 na aresta externa. | 4 espinhas no mero: na aresta superior. | 3 espinhas no mero na aresta superior. |
| — | — | 1 espinha assimétrica, no lado esquerdo. próxima a espinha marginal. |
| Distribuição geográfica: Oceano Pacífico-Peru: Oceano Atlantico - Panamá. | Brasil. | Brasil, Rio de Janeiro. |

marginais (X e V). O contôrno da carapaça, do ponto X para a parte posterior, segue a direção de uma reta que faz um ângulo de 62° com o eixo transversal X V. (Ângulo OXY = 62°). A extremidade posterior da carapaça (Z) se acha à distância do centro 0 de 0,81 do raio, isto é, OZ = 0,81. OV. Na extremidade posterior o contôrno da carapaça segue a direção de quase duas linhas retas ZY e ZS, que formam um ângulo de 126° (ângulo YZS = 126°). O sulco do rostro termina em um pouco U que fica a 0,58 do raio, isto é, UW = 0,58. OV. Ângulo de abertura do rostro Q U M = 52°. O terceiro dentículo na borda látero-anterior da carapaça forma com a linha mediana um ângulo N O W = 32°. Linha mediana da carapaça (Fig. 4, Estampa 2) de diante para trás: — Sulco do rostro, pouco depois está a primeira espinha mediana (I, fig. 4), seguida de uma espínula. Na região mesogástrica está a II espinha mediana (II, fig. 4); do lado direito e do lado es-

querdo da II espinha estão duas espínulas formando com a II espinha mediana um triângulo equilátero de 5 mm de lado ($\gamma$ fig. 4). III espinha na região urogástrica, IV na região cardíaca, com um tubérculo crateriforme para trás (Tc — fig. 4). MEDIDAS: Sulco do rostro: 14 mms; do sulco do rostro até a I espinha: 6 mm; da I até a II: 10 mm; da II até a III: 16 mm; da III até a IV: 7 mm; da IV até ao tubérculo crateriforme: 6 mm; da IV até a V: 18 mm; da V até o bordo posterior da carapaça: 10 mm.

Espinhas da carapaça não situadas na linha mediana: Em plano quasi perpendicular a linha mediana, ao nível da I espinha, estão: uma espinha para a direita (a 7mms. da I) e outra espinha do outro lado, a 7 mms. para a esquerda da espinha mediana ($\alpha$ fig. 4, Est. 2). Há uma espinha em cada região hepática ($\beta$ fig. 4, Et. 2). Em plano quasi perpendicular à linha mediana, ao nível da III espinha na região gástrica estão: duas espinhas para o lado direito e duas para o lado esquerdo (a 17 e a 26 mm da III) ($\delta$, $\epsilon$ fig. 4, Est. 2) Há mais duas espinhas, na direção da espinha $\epsilon$ à espinha $\alpha$ (i, K, fig. 4, Est. 2).

Em plano quasi perpendicular à linha mediana, ao nível da IV espinha estão 3 espinhas para o lado direito e 3 para o lado esquerdo ($\zeta$, $\eta$, $\theta$, fig. 4, Est. 2. A que se acha situada a 35 mm da IV, é a maior espinha da carapaça, na região branquial. Sòmente do lado esquerdo a 8 mm acima da espinha marginal branquial existe uma espinha assimétrica, e sem correspondente no lado direito, (entre $\theta$ e $\eta$).

Quelípodos: Mão (4mm de diametro, 30 mm de comprido), com a palma lisa, cilíndrica (fig. 7, Est. 3) achatada (4 mm diametro e 19 mm de comprida). Dedos: (11 mm de ccmprimento) dedo móvel: daictilo fino, estreito (2 mm de diametro na base, terminando em ponta aguda, levemente arqueada, com um serrilhado delicado quasi liso. Dedo fixo: pólex com o mesmo aspecto dactilo, mas é mais reto e menos arqueado. Carpo levemente piloso. Mero levemente piloso, de forma prismática com 3 faces: ventral, interna e externa (fig. 6). Na aresta dorsal há 3 tubérculos: o 1° próximo ao ísquio, o 2° próximo ao carpo; o tubérculo medio fica mais perto do 1° que do 2°. Mero com 3 tuberosidades na extremidade da articulação carpomeral. Patas ambulatórias decrescendo em tamanho da primeira a ultima, pilosas. Dactilos desarmados; própodos cilíndricos ligeiramente pilosos. Carpos com uma depressão longitudinal que vai quasi da articulação merocarpal até a quasi a própodo- carpal.

Pedúnculo ocular pequeno, curto, dentro de uma órbita formada da seguinte maneira: Escama orbitária com uma espinha para baixo (E — fig. 4,

Est. 2), próximo ao ôlho uma fissura (F. — fig. 4) (d, f, Fig. 5, Est. 3). Base das antenas exteriores com dois espinhos proximos ao ôlho (G, H, figura 4) (E- fig. 5). Distância entre os olhos larga (fig. 3: KL = 0,55 do raio OV). Terceiro maxilípodo, antena, e antênulas conforme as figuras.

**MEDIDAS EM MILIMETROS — EXEMPLAR TIPO, FEMEA**

| | PARES DE PATAS AMBULATORIAS | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | QUELIPODO | 1.º | 2.º | 3.º | 4.º |
| Dáctilo | 9 | 11 | 9 | 9 | 9 |
| Própodo | 24 | 18 | 17 | 14 | 12 |
| Carpo | 4 | 10 | 11 | 9 | 8 |
| Mero | 12 | 22 | 16 | 15 | 12 |
| Coxa | 9 | 8 | 8 | 8 | 7 |
| Base | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 |
| Isquio | 5 | 5 | 5 | 4 | 3 |
| TOTAL DO COMPRIMENTO DA PATA | 67 | 78 | 70 | 62 | 54 |

Largura máxima da carapaça (X a V, fig. 3 Est 2) = 64,5 mm
Comprimento da carapaça (U a Z) = 67 mm.
Comprimento do corpo = 71 mm

BIBLIOGRAFIA

RATHBUN, M. J. — 1925 The Spider Crabs of América. Bull.129, U. S. Nation. Museum. 613 ps. 283 pls.

**ESTAMPA 1**

Fig. 1 — *Libinia rostrata* variedade *bellicosa*, nova variedade. Vista pela face dorsal. Fotografias de J. PINTO.

Fig. 2 — idem, fig. 1, vista pela face ventral.

**Lejeune P. H. de Oliveira:** Sôbre a existência na baía do Rio de Janeiro de uma aranha do mar originária do Oceano Pacífico: **Libinia rostrata.**

## ESTAMPA 2

Fig. 3 — Carapaça de *Libinia rostrata* Bell var. *bellicosa* nova variedade.
OXY = 62°; OZ = 0,81 do raio OV.;
YZS = 126°; UW = 0,58 do raio OV;
MUQ = 52°; WON = 32°.
(Fotografia de J. PINTO) × 0.95

Fig. 4 — Carapaça de *Libinia rostrata* Bell var. *bellicosa*.
Vista pelo lado direito, desenho esquemático (× 1,6).
I, II, III, IV, V — espinhas medianas.
α, β, γ, δ ε, ζ, η, θ, ι, ϰ, — espinhas não medianas. A — espinha pré-orbitaria; $d_1$ $d_2$ $d_3$ $d_4$ — 1°. 2°, 3°, e depois o 4° dentículo da borda látero- anterior da carapaça; B — olho; C — rostro; E, F — escama orbitária com uma espinha para baixo (E), e próximo ao ôlho uma fissura (F); G — base das antenas exteriores com dois espinhos próximos ao ôlho: G e H; I — antena de 2.° par ou antena exterior ou antênula.

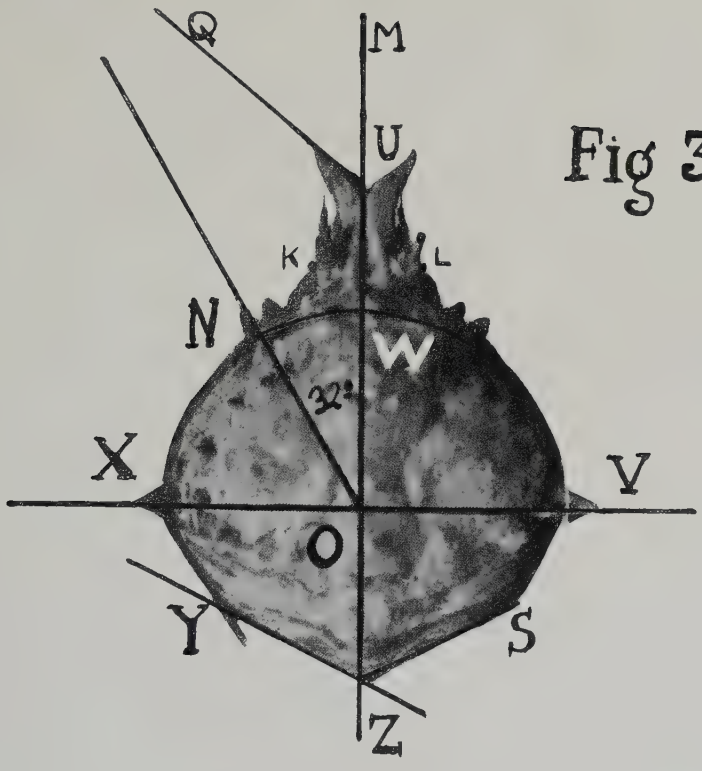



Fig 3

Fig 4

**Lejeune P. H. de Oliveira:** Sôbre a existência na baía do Rio de Janeiro de uma aranha do mar originária do Oceano Pacífico: **Libinia rostrata.**

## ESTAMPA 3

*LIBINIA ROSTRATA* var. *BELLICOSA*

Fig. 5 — *a*: antena do 2° par; *b*: espinha pré-orbitaria; *c*: ôlho; *d*: fissura da escama orbitária; E — artículo basal das antenas, com duas espinhas próximas ao ôlho; f — espinha da escama orbitária. g — rostro; H — fossetas das antenas de 1° par; i — antenas de 1° par; L, m, n, o — 1°, 2°, 3°, 4° dentículos da margem ântero-lateral da carapaça; p — tubérculo auditivo.

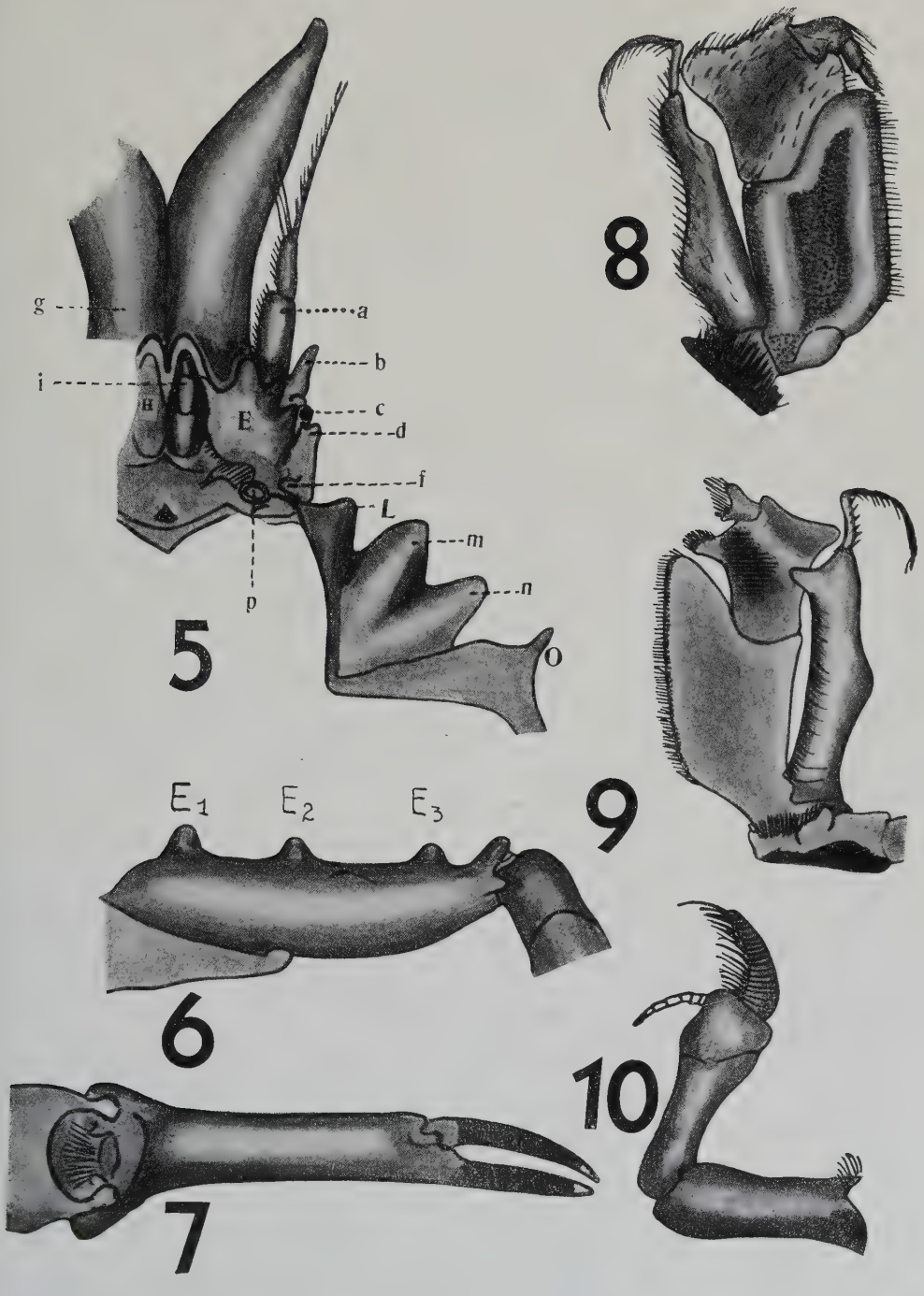
Fig. 6 — Mero. Quelípodo esquerdo. Face interna, mostrando as espinhas $E_1$ $E_2$ $E_3$.

Fig. 7 — Pinça, lado esquerdo.

Fig. 8 — Terceiro maxilípodo, vista pela face externa.

Fig. 9 — Terceiro maxípodo, vista pela face interna.

Fig. 10 — Antena de 1° par.




**Lejeune P. H. de Oliveira:** Sôbre a existência na baía do Rio de Janeiro de uma aranha do mar originária do Oceano Pacífico: **Libinia rostrata.**

# Hemângio-retículo-endotelioma do pericárdio

pelo

Dr. Jonio F. de Salles

(Com 6 figuras no texto)

No serviço de Necropsias da Seção de Anatomia Patológica do Instituto Oswaldo Cruz, no Hospital São Francisco de Assis, tivemos a oportunidade de encontrar um blastoma primitivo do pericárdio, fato de rara ocorrência (Mönckeberb, 1924), o que justifica esta publicação.

Tumores considerados primitivos do coração, com esta mesma estrutura, têm sido publicados, em data relativamente recente. Alguns autores consideram, mesmo, êsses blastomas, como idênticos á "doença de Kaposi".

Dorffell (1932) concluindo que o sarcoma de Kaposi é uma doença do sistema retículo-endotelial, faz cuidadosa revista da literatura, pela qual se vê que todos os casos até então descritos mostram localização cutânea obrigatória.

Dois casos com êsse diagnóstico são descritos por Choisser & Ramsey (1939), fazendo êles, no mesmo trabalho, uma revisão completa de blastomas com a estrutura de ângio-retículo-endotelioma (doença de Kaposi).

Cunha Motta (1941) apresenta um caso de hemângio-retículo-endotelioma primitivo do coração, com crescimento infiltrativo e invasor do miocárdio "que gradual e progressivamente destrói a êle se substituindo". A parede da aurícula direita era totalmente constituída pela espêssa massa tumoral. Esta crescia, envolvendo como denso manguito neoplásico, os vasos da base, especialmente a aorta. Nos ventrículos, via-se nìtidamente a substituição progressiva da parede miocárdica, pelo crescimento neoplásico.

Cunha Motta concorda com Choisser & Ramsey em considerar ùnicamente localizações cardíacas primárias ou secundárias, na doença de Kaposi, aquelas que são acompanhadas pelas manifestações cutâneas características daquela afecção.

O blastoma que vamos descrever oferece grande interêsse, ainda, pelo fato de permanecer estritamente acantonado ao pericárdio, embora sua estrutura concorde inteiramente com os casos descritos, como primitivos do coração.

* Recebido para publicação a 26 de fevereiro e dado à publicidade em fevereiro de 1944.

Autópsia n.º 7.632.

Feita em 15 de Janeiro de 1944 Drs. Jônio F. de Salles, Eitel Duarte e Wilson Jucá.

Nome A. C. L., operária, 27 anos de idade, brasileira.

*Diagnóstico Anatômico*: — Hemângio-retículo-endotelioma do pericárdio. Tuberculose do ápice do pulmão esquerdo. Congestão crônica passiva do fígado. Edema e congestão do pulmão direito. Congestão do baço. Hidrotórax bilateral. Hidropericárdio. Hidroperitônio. Edema dos membros inferiores. Ancilostomose.

O cadáver é o de uma mulher de côr parda, em más condições de nutrição, medindo 1m,65 de comprimento, pesando 46 quilos.

Pupilas redondas, igualmente dilatadas. Córneas opacas. Conjuntivas ligeiramente amareladas. Dentes em bom estado de conservação. Pêlos conservados, com distribuição normal. Pele não apresenta cicatrizes, nem lesões. Edema acentuado dos membros inferiores. Gânglios linfáticos inguinais, epitrocleanos e cervicais, palpaveis. Rigidez cadavérica conservada.

Ao corte, as camadas gordurosa e muscular, reduzidas. Peritónio liso, úmido e brilhante. Alças intestinais distendidas por gases, livres de aderências. Apêndice vermiforme, permeável. Gordura do epíplon, conservada. Gânglios do mesentério, entumecidos. A cavidade peritoneal contém 2.600 em3 de líquido amarelo, turvo. O fígado excede ao apêndice xifóide, na extensão de 13 cm., e ao rebordo costal, na linha mamilar, na de 7,5 cm.

Tórax: — Diafragma está na altura do 7.º espaço intercostal, á direita, e a da 7.ª costela, á esquerda. Espaço percordial mede 28 cm. de base, e 17,5 cm. de altura. Cavidade pleural direita contém 950 cm3 de líquido sanguinolento. Cavidade pleural esquerda encerra 2.100 cm3 de líquido amarelado, ligeiramente avermelhado. Saco fibroso do pericárdio distendido por 650 cm3 de líquido amarelo-citrino, sendo o coração livre em seu interior, e sensìvelmente deslocado para baixo e para a esquerda. Pulmão direito mostra a pleura ligeiramente espessada, ao nível do lobo inferior. Crepitação conservada em todo o órgão. Ao corte, a superfície é de côr vermelha clara, dando saída, por espressão, a líquido pouco abundante, espumoso, sanguinolento. Pulmão esquerdo mostra aderencia fibrosa circunscrita ao nível do ápice. Crepitação diminuída, no lobo superior, e desaparecida no lobo inferior. Ao corte, a superfície é de côr vermelha-escura, na base, e cinza-escura, com áreas esbranquiçadas, no ápice, onde é vista uma cavidade, irregular, medindo 4x3 cm, a cujo nível existe necrose de caseificação.

Fig. 1 — Blastoma do pericárdio. À direita, aparece um retalho do saco fibroso do pericárdio. O blastoma adere intimamente aos vasos da base do coração. Bridas fibrosas aparecem, entre a crossa da aorta e o tumor. Uma vesícula maior é vista, na superfície do tumor, à esquerda, existindo uma outra menor, apensa ao tumor em sua parte inferior. No coração não existe blastoma. Tamanho natural.

Foto *J. Pinto*.

Aberto o saco fibroso do pericárdio, nota-se em sua porção mais elevada, aderindo intimamente ao folheto parietal e ligado por bridas fibrosas à crossa da aorta, um tumor de forma irregular, medindo aproximadamente 6,5 x 5,5 x x 3,8 cm (fig. 1).

A sua superfície é irregular, mostrando numerosos quistos, dos quais um maior, do tamanho de uma cereja, contendo líquido limpido; outros quistos menores, contendo também líquido límpido, estão regularmente disseminados na superfície do tumor. A sua consistência é firme. Ao corte aparecem pequenas areas de côr cinzenta-esbranquiçada, lembrando tecido conjuntivo fibroso (fig. 2). Tais áreas são cercadas por tecido menos compacto, de côr vermelha-escura e negra. Cortes posteriores mostram que o tumor não infiltra o coração, ficando localizado, sòmente, no saco fibroso do pericárdio, em sua porção mais elevada.

Coração mede 9 cm., do ápice ao sulco auriculoventricular; 6,6 cm., o diâmetro transverso e 4,8 cm, o diâmetro ântero-posterior. Gordura epicardial conservada. Vasos superficiais túrgidos e sinuosos. A ponta do coração é formada por ambos os ventrículos. Parede do ventrículo direito mede 3 mm de espessura, na base, e a do esquerdo, 16 mm. Aparelho valvular, íntegro. Endocárdio liso, e brilhante. Miocárdio de côr castanha-escura, não mostrando, em sua espessura tecido blastomatoso, nem aumento evidente do tecido conjuntivo. Crossa da aorta de côr amarela-pálida e de aspecto normal.

Baço mede sôbre a convexidade 10 x 6 x 3,5 cm. Cápsula lisa e brilhante. Ao corte, a superfície é de côr vermelha-violácea. Tecido conjuntivo aparente, tecido linfóide obscurecido. Polpa não difluente.

Fígado mede 22 x 13,7 x 3,5 cm. Configuração normal. Cápsula lisa, brilhante, deixando transparecer sôbre o órgão, pontilhado de coloração vermelha.

Ao corte, a superfície do fígado é de côr amarela-clara, mostrando areas intensamente coradas em vermelho, dando ao órgão o aspecto típico de noz moscada. O parênquima hepático oferece resistência normal ao dedo do operador que procura penetrá-lo Vesícula biliar contendo pequena quantidade de bílis, xaroposa, de côr castanha-esverdeada. Não são vistos cálculos, nem concreções.

Rim direito mede 14 x 7, 5 x 3,5 cm., e o esquerdo 13 x 7 x 4 cm. Cápsula de ambos os rins destacando-se com relativa facilidade, deixando a descoberto uma superfície de côr vermelha-clara, lisa e brilhante. Ao corte, a cortical ligeiramente túmida, de côr amarela-avermelhada, contrastando com a das pirâmides, de côr violácea. Mucosa dos cálices, bacinetes e ureteres, com aspecto normal.

Fig. 2 — Superfície de um corte praticado no sentido do maior diâmetro do tumor. Áreas de coloração cinzenta-esbranquiçada, as quais, ao microscópio, mostram estrutura angiomatosa, e fazem grande contraste com os tecidos circumvizinhos, de coloração vermelha muito escura. À direita, retalho do saco fibroso do pericárdio. O coração não é invadido pelo tumor. Tamanho natural.

Foto *J. Pinto*.

Supra-renais mostram a camada cortical ligeiramente atrofiada, nela sendo vistos pequenos nódulos amarelados.

Pâncreas com forma e aspecto normaes.

Suprarrenais mostram a camada cortical ligeiramente atrofiada, nela sendo vistos pequenos nódulos amarelados.

Pâncreas com forma e aspecto normaes.

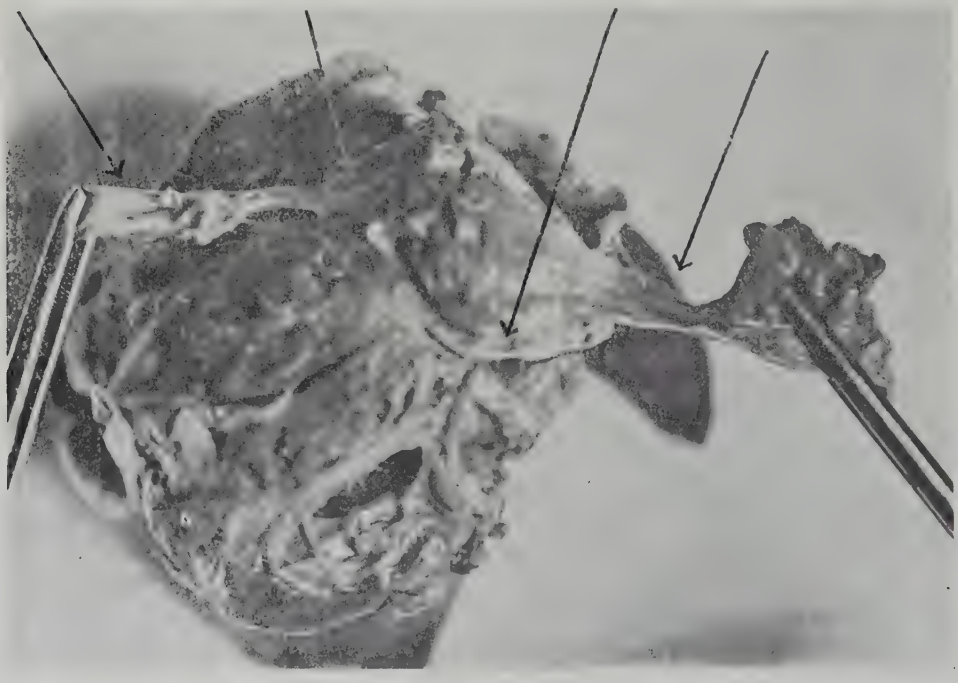


Fig. 3 — A inserção do folheto parietal do pericárdio está indicada pelas setas. Vê-se, claramente, que o blastoma está contido no saco fibroso do pericárdio. Tamanho natural.

Foto *J. Pinto*.

Útero, trompas e ovários sem lesões macroscópicas dignas de nota.

Estômago e intestinos não mostram lesões ulcerosas, nem blastoma. No jejunoíleon, foram encontrados 9 exemplares de *Ancilostoma duodenale*.

Crânio: não foi examinado.

## EXAME MICROSCÓPICO

Fragmentos retirados de diferentes pontos do blastoma, mostram estrutura semelhante. Em todos os preparados chamam a atenção a extensa hemorragia e a necrose dos tecidos.

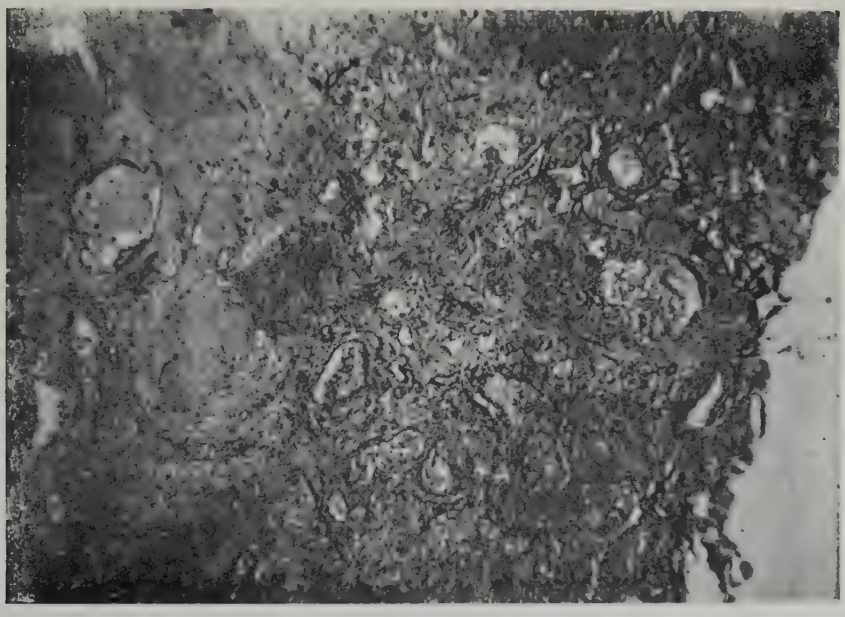


Fig. 4 — Aspecto microscópico do blastoma, com estrutura de hemângio-retículo-endotelioma. Nota-se na porção esquerda e superior, necrose extensa e hemorragia. Aumento: 110 vêzes. Col. Hematoxilina-eosina.

Foto *J. Pinto*.

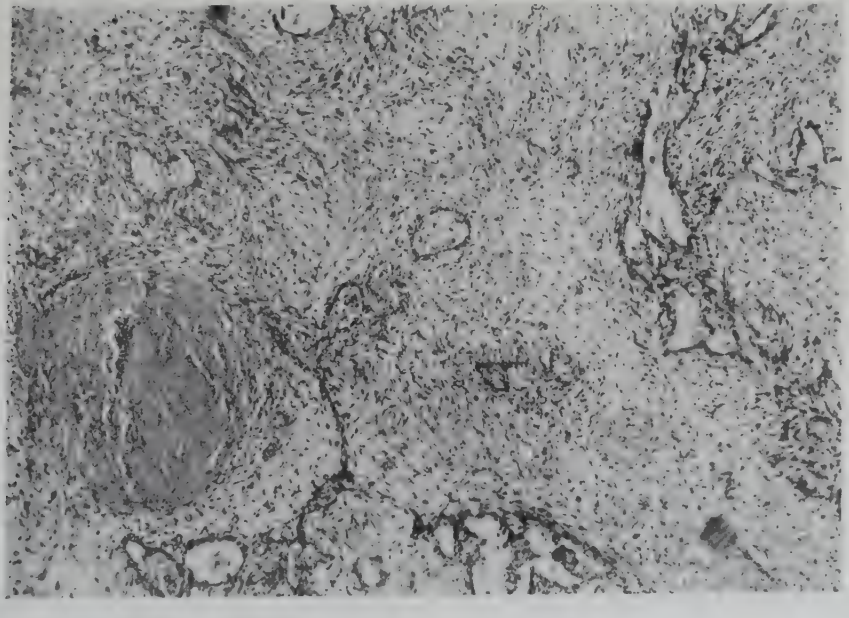


Fig. 5 — Outro aspecto microscópico do hemângio-retículo-endotelioma. Aumento: 220 vêzes. Col. Hematoxilina-eosina.

Foto *J. Pinto*.

Nos raros pontos em que os tecidos do blastoma estão conservados, nota-se grande número de espaços com dimensões as mais variadas, irregulares, comunicando-se largamente entre si, revestidos por células, ora achatadas à maneira de endotélio, ora cúbicas.

As figuras 4 e 5 dão bem idéia da estrutura angiomatosa descrita.

Entre os vasos sanguíneos atípicos existe um tecido abundantemente vascularizado, formado por células fusiformes, por vêzes esboçando uma disposição fasciculada (fig. 5).

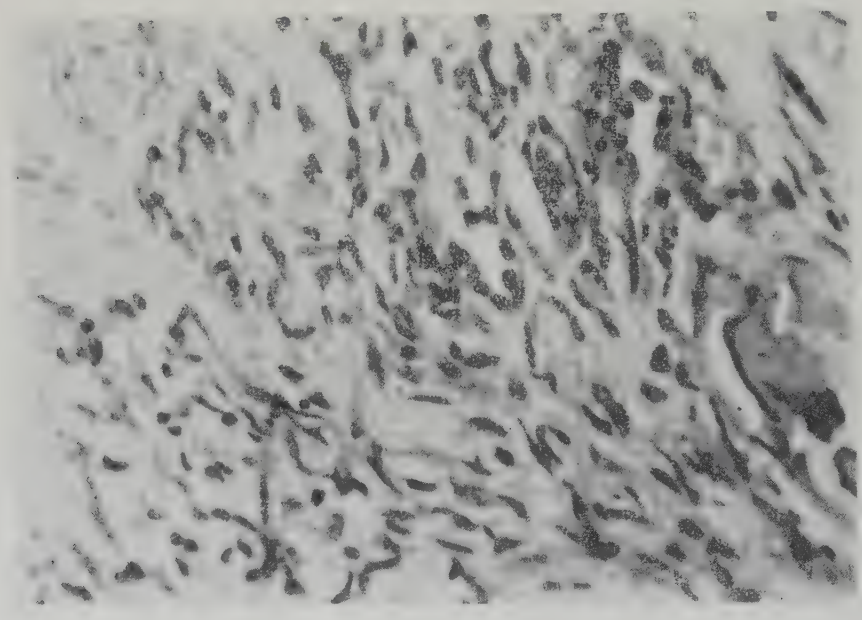


Fig. 6 — Hemângio-retículo-endotelioma, visto com maior aumento, 340 vêzes. Col. Hematoxilina-eosina.

Foto *J. Pinto*.

Na vizinhança imediata dos espaços sanguíneos, as células fusiformes apresentam núcleos hipercromáticos e moderado pleomorfismo, tendo, dêste modo, semelhança com as células de um sarcoma.

Ao contrário, as células fusiformes esparsas no tecido fibroso interposto às estruturas angiomatosas, são semelhantes aos fibrócitos do tecido conjuntivo.

Em resumo, o exame histopatológico, revela um blastoma com nítida estrutura angiomatosa, combinada à de um sarcoma, contidas estas estruturas em estroma conjuntivo, vascularizado, no qual são vistas estensas hemorragias. O exame microscópico dos quistos encontrados na superfície do tumor,

mostra que as suas paredes são constituídas por tecido conjuntivo fibroso com arquitetura semelhante à do folheto parietal do pericárdio. Células epiteliais cúbicas existem em alguns pontos; em outros a superfície é coberta por fibrina. Identificamos tais estruturas, portanto, a porções do folheto parietal do pericárdio, atingidas por pericardite fibrinosa. Confirma, assim o exame microscópico, que tais quistos não constituem parte integrante do blastoma assinalado no pericárdio.

Agradecemos ao nosso mestre e amigo Prof. C. Magarinos Torres e ao Prof. A. Penna de Azevedo o auxílio que nos prestaram na identificação do blastoma, e aos colegas Drs. Eitel Duarte e Wilson Jucá, na confecção da necropsia.

Nossos agradecimentos são também extensivos aos técnicos Abílio Lopes e J. Pinto, a quem devemos as preparações microscópicas e a documentação fotográfica.

## SUMMARY

The author presents a case of primitive hemangio-reticulo-endothelioma of the pericardium.

The structure of the tumor is identical to that of cases reported as primitive of the heart, and similar to that of the hemorrhagic sarcoma of Kaposi, without, however, the typical cutaneous lesion of the disease.

## LITERATURA CITADA

Choisser, M. R. & Ramsey, E. M.

1939 Angioreticuloendothelioma (Kaposi's desease) of the heart. Am. Journ. of Path. 15: 155-178.

Cunha Motta, L.

1941 Hemângio-retículo-endotelioma. An. Fac. Med. S. Paulo. 17: 629-649.

Dorffel, Julius.

1939 Histogenesis of Multiple Idiopathic Hemorrhagic Sarcoma of Kaposi. Arch. of Dermat. and Syph. 26 : 608-634.

Mönckeberg, J. G.

1924 Die Erkrankung des Herzbeutels in Henke & Lubarsch: Hand. d. spez. path. Anat. u Histol. Bd II : 556-607.

# Resultados do emprêgo das leprolinas "Souza-Araujo" comparativamente com o da lepromina (*)

por

José Mariano

*Diretor da Colônia Santa Fé.*
*Três Corações, Minas Gerais*

Procede de longa data o estudo das intradermo-reações em leprosos com antígenos de bacilos a.a.r. No entanto, a dificuldade de obtenção de culturas tornam o emprêgo do antígeno de culturas de bacilos a.a.r. de difícil utilização, pois o preparo requer técnica especial e instalações adequadas nos fazendo crer que sòmente Institutos de pesquisas estejam em condições de conseguir as culturas desejadas, principalmente em se tratando do *Mycobacterium leprae.*

Obtido o antígeno, o seu emprêgo, a nosso ver, é sòmente possível em dois setores da leprologia — o prognóstico e a terapêutica.

Para o prognóstico da evolução da infecção léprica, já temos a lepromina, prova universalmente conhecida e manuseada pelos leprologistas.

Restava-nos, pois, verificar o comportamento de várias culturas do *Bacillus leprae* em relação á prova da lepromina, nas diferentes formas clínicas da lepra.

Êste será pois o motivo do presente trabalho. Na confecção do mesmo empregámos cinco leprolinas assim identificadas:

1 — Cultura de lepra. Amostra "José" (Souza Araújo).
2 — Cultura José, recobrada de cobaia.
3 — Cultura de b.a.a.r. de *Amblyomma cajennense,* amostra "Alcebíades" (Souza Araújo).
4 — Dita *Amblyomma cajennense,* amostra "Teixeira" (Souza Araújo).
5 — Dita de *Boophilus microplus,* amostra "Rudan" (Souza Araújo).

Empregamos as leprolinas em intradermo-reações, com a dose de 0,2cc. em cada picada e localizadas na face anterior dos braços e antebraços, de acôrdo com a figura 1.

* Entregue para publicação em 29 de fevereiro de 1944 e dado à publicidade no mesmo mês.

Na figura acima, os números de 1 a 5 correspondem ás leprolinas e o número 6 à lepromina.

As intradermo-reações foram feitas com a colaboração do professor Souza Araújo, que também procedeu à primeira leitura, em todos os pacientes.

Para verificação dos resultados agrupamos os enfermos de acôrdo com a classificação do Cairo, em 10 grupos, assim distribuídos: L1 — N1 — N2 — N3 — L1N1 — L2N2 — L1N2 — L2N1 — L3N1 — L3N2 — que apa-

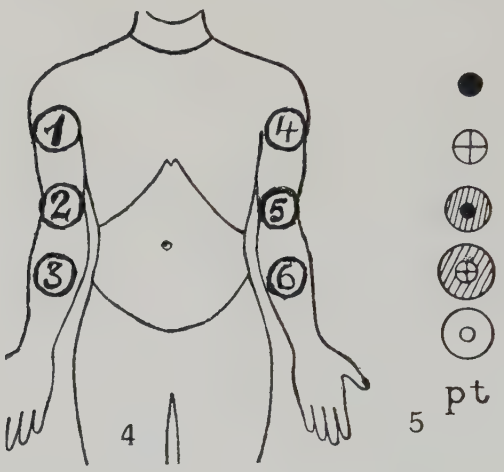



Figura 1

recerão separadamente nas páginas seguintes, a fim de tornar mais clara a avaliação dos resultados. Em grupos à parte (11, 12, 13) colocamos crianças que se destinavam ao Preventório, comunicantes e pessoas em observação.

Para cada caso fizemos a observação da evolução das reações das diversas leprolinas usadas e da lepromina, de 7 em 7 dias, tendo como referência final a quarta leitura.

As colunas de 1 a 5 correspondem ás leprolinas, de acôrdo com a identificação anteriormente citada; a coluna 6 destinamos ao resultado do emprêgo da lepromina.

GRUPO 1

## FORMA CLINICA L1

| FICHA | INICIAIS | SEXO | COR | IDADE | DATAS DAS LEITURAS | LEITURAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1.099 | P. A. S..... | M. | Mor. | 8 | 24-8-43 | 1.ª | ± | ± | ± | ± | ± | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | + | + | 0 | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1.130 | A. C..... | F. | Br. | 18 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | ++ | + | ± | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | ++ | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | ++ | 0 | 0 | 0 |
| 599 | M. B..... | F. | Br. | 15 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | + | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ± | ± | ± | ± | ± | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | + | + | ⊕ | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 889 | T. J..... | F. | Br. | 14 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 376 | T. C..... | F. | Br. | 12 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ± | ± | ± | ± | ± | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | + | + | 0 | + | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | + | + | + | 0 | + | 0 |
| 255 | R. B..... | F. | Br. | 27 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | ± | ± | ± | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 867 | M. S..... | F. | Br. | 10 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ± | ± | ± | ± | ± | 0″ |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0″ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0″ |
| 680 | L. Q..... | M. | Br. | 9 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | + | + | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Abreviaturas empregadas:

M — Masculino.
F. — Feminino.
Mor. — Moreno
Pr. — Preto.
Br. — Branco.
0″ — Caldo glicerinado.
⊕ — Duvidoso.
\+ — Positivo.
++ — Fortemente positivo.
± — Duvidoso.

GRUPO 2

**FORMA CLINICA N1**

| FICHA | INICIAIS | SEXO | COR | IDADE | DATAS DAS LEITURAS | LEITURAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 832 | A. F. R..... | F. | Br. | 12 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | + | 0 | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | 0 | ± | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1.029 | M. P. A..... | F. | Br. | 42 | 24-8-43 | 1.ª | ± | ± | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | + | + | + |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | + | 0 | ± | ⊕ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | + | 0 | ± | ⊕ |
| 447 | M. O. R..... | F. | Pr. | 24 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | + | ± | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | + | + | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | + | 0 | 0 | 0 | ++ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | + | 0 | 0 | 0 | ++ |
| 484 | M. A. E..... | F. | Br. | 19 | 24-8-43 | 1.ª | + | ± | + | ± | ± | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ± | ± | ± | ± | ± | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | ++ | + | + | + | 0 | + |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | ++ | + | + | + | 0 | + |
| 590 | A. A. V..... | F. | Br. | 18 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | + | 0 | 0 | 0 | |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | + | 0 | 0 | 0 | |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | + | 0 | |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | + | 0 | |
| 550 | T. M..... | F. | Br. | 16 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | + | ± | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | + | 0 | + | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | + | 0 | 0 | + | 0 | 0 |
| 614 | J. B..... | M. | Br. | 16 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | + | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | + | + | + | 0 | ⊕ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | + | + | + | 0 | + |

GRUPO 3

**FORMA CLINICA N2**

| FICHA | INICIAIS | SEXO | COR | IDADE | DATAS DAS LEITURAS | LEITURAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 824 | G. S..... | F. | Br. | 21 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | + | 0 | + | + | + |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | ++ | ++ | + |
| | | | | | 8-9 43 | 3.ª | + | + | + | + | + | ++ |
| | | | | | 15-8-43 | 3.ª | + | + | + | + | + | ++ |
| 336 | A. C. J..... | F. | Br. | 20 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | + | + | 0 | + |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ± | ± | ± | ± | ± | ± |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | + | 0 | 0 | 0 | + |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | ++ | 0 | 0 | 0 | ++ |
| 995 | O. F. S..... | F. | Br. | 39 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | + | 0 | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |

GRUPO 4

**FORMA CLINICA N3**

| FICHA | INICIAIS | SEXO | COR | IDADE | DATAS DAS LEITURAS | LEITURAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 944 | M. B..... | F. | Mor. | 43 | 24-8-43 | 1.ª | + | 0 | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 9-9-43 | 3.ª | ++ | ++ | ++ | + | + | ++ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | ++ | ++ | ++ | + | + | ++ |
| 1.121 | E. B. M..... | F. | Br. | 52 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | + | + | ± | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ++ | ++ | + | 0 | + | + |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ++ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ++ |
| 781 | B. F. C..... | F. | Br. | 20 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | ± | ± | ± | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | ++ | 0 | + | 0 | + |
| | | | | | 15-9-43 | 4ª. | 0 | ++ | 0 | + | 0 | + |
| 646 | A. M. J..... | F. | Br. | 17 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ± | ± | ± | ± | ± | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | + | 0 | 0 | 0 | ++ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | + | 0 | 0 | 0 | ++ |
| 841 | A. L..... | F. | Br. | 26 | 24-8-43 | 1.ª | ± | ± | + | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | 0 | ± | ± |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | + | + | + | + | + |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | + | + | + | + | + | + |
| 1-118 | M. C..... | F. | Br. | 48 | 24-8-43 | 1.ª | ++ | + | + | + | + | + |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |

GRUPO 5

**FORMA CLINICA L1-N1**

| FICHA | INICIAIS | SEXO | COR | IDADE | DATAS DAS LEITURAS | LEITURAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1.116 | T. F..... | F. | Br. | 13 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ++ | ++ | + | + | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | ++ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | ++ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 163 | M. L. M..... | F. | Br. | 17 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | ± | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | ++ | + | + | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | ++ | + | + | + | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | + | ++ | + | + | + | 0 |
| 818 | G. P..... | F. | Mor. | 13 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | + | + | + | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 392 | B. C..... | M. | Br. | 12 | 24-8-43 | 1.ª | ± | ± | ± | ++ | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 849 | J. V. S..... | M. | Br. | 12 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1.148 | P. F. S..... | M. | Mor. | 13 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | + | ± | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | + | 0 | + | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 398 | J. M..... | M. | Br. | 9 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 596 | B. C. D..... | F. | Br. | 18 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | + | ++ | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | + | ++ | 0 | 0 | 0 |
| 607 | F. P..... | M. | Br. | 14 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | + | 0 | + | ± | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1.123 | I. R..... | F. | Br. | 18 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | ++ | + | + | ++ | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | ++ | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | + | ++ | 0 | + | + | 0 |
| 933 | T. C. S..... | F. | Br. | 15 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | + | + | + |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

GRUPO 6

**FORMA CLINICA L2-N2**

| FICHA | INICIAIS | SEXO | COR | IDADE | DATAS DAS LEITURAS | LEITURAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1.090 | C. M. J..... | F. | Pr. | 26 | 24-8-43 | 1.ª | ± | ± | ± | + | + | 0 |
| | | | | | 1 9-43 | 2.ª | + | + | + | + | + | + |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | + | + | 0 | + | ++ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | + | + | 0 | + | ++ |
| 492 | A. C. C..... | F. | Br. | 33 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | + | ± | ± | 0 |
| | | | | | 1 9-43 | 2.ª | 0 | 0 | + | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9 43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 496 | O. C. A..... | F. | Br. | 52 | 24 8 43 | 1.ª | ± | ± | 0 | + | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | ± | 0 | 0 |
| | | | | | 8 9-43 | 3.ª | + | + | 0 | 0 | + | 0 |
| | | | | | 15 9 43 | 4.ª | + | + | 0 | 0 | + | 0 |

GRUPO 7

**FORMA CLINICA L1-N2**

| FICHA | INICIAIS | SEXO | COR | IDADE | DATAS DAS LEITURAS | LEITURAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 796 | M. C..... | F. | Br. | 26 | 24-8-43 | 1.ª | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1 9-43 | 2.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 8 9-53 | 3.ª | 0 | 0 | + | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15 9-43 | 4.ª | 0 | 0 | + | 0 | 0 | 0 |
| 160 | F. R..... | F. | Br. | 17 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-8-43 | 2.ª | ± | ± | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15 9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 99 | L. G. C..... | M. | Br. | 15 | 24 8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 121 | J. T..... | F. | Br. | 17 | 24 8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1 9-43 | 2.ª | ± | ± | ± | ± | ± | ± |
| | | | | | 8-9 43 | 3.ª | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 865 | M. G..... | F. | Br. | 24 | 24 8-43 | 1.ª | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15 9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1.108 | C. A. F..... | F. | Br. | 45 | 24 8-43 | 1.ª | ± | ± | ± | ± | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15 9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 553 | J. A. L..... | F. | Br. | 18 | 24 8-43 | 1.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ± | ± | ± | ± | ± | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15 9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 707 | N. C. J..... | F. | Br. | 35 | 24-8-43 | 1.ª | ± | ± | ± | + | 0 | 0 |
| | | | | | 1 9-43 | 2.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 8 9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

| FICHA | INICIAIS | SEXO | COR | IDADE | DATAS DAS LEITURAS | LEITURAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1.125 | M. A..... | F. | Br. | 19 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | 0 | ± | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ± | ± | ± | ± | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9 43 | 3.ª | ++ | + | + | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | ++ | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 530 | A. M..... | F. | Br. | 39 | 24-9-43 | 1.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | + | + | + |
| | | | | | 8-9 43 | 3.ª | + | + | + | + | + | + |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | + | + | + | + | + | + |
| 258 | A. J. M..... | M. | Br. | 12 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | ++ | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9 43 | 2.ª | 0 | ++ | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 8-9 43 | 3.ª | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15 9-43 | 4.ª | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 577 | O. R. S..... | F. | Br. | 18 | 24-8 43 | 1.ª | + | + | + | ++ | ++ | 0 |
| | | | | | 1-9 43 | 2.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | 0 | 0 |
| | | | | | 8 9-43 | 3.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | 0 | 0 |
| 872 | O. L..... | M. | Mor. | 14 | 24-8-43 | 1.ª | + | 0 | 0 | + | 0 | 0 |
| | | | | | 1 9 43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | + | 0 | 0 |
| | | | | | 8 9 43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9 43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 528 | R. B. S..... | M. | Pr. | 15 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | ++ | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9 43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9 43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

## GRUPO 8

## FORMA CLINICA L2–N1

| FICHA | INICIAIS | SEXO | COR | IDADE | DATAS DAS LEITURAS | LEITURAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 155 | M. F. J. F.... | F. | Pr. | 16 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | ± | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9 43 | 2.ª | 0 | 0 | ± | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9 43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-8 43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 668 | B. D. G..... | F. | Br. | 20 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | + | ++ | + | 0 |
| | | | | | 1 9-43 | 2.ª | + | + | + | ++ | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | + | + | ++ | + | 0 |
| | | | | | 15-8-43 | 4.ª | + | + | + | ++ | + | 0 |
| 1.109 | S. Z..... | F. | Br. | 32 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | 0 | ± | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ± | ± | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | + | 0 |
| | | | | | 15-9 43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | + | 0 |
| 277 | J. S. P..... | F. | Mor. | 34 | 24-9-43 | 1.ª | — | — | + | + | + | + |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | — | — | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | — | — | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | — | — | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 1.201 | N. L. S..... | F. | Br. | 19 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | 0 | ± | ± | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ± | ± | ± | ± | ± | ± |
| | | | | | 8 9 43 | 3.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 640 | A. G. F..... | F. | Br. | 31 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | + | + | + | + |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ++ | ++ | + | + | + | + |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | ++ | ++ | 0 | + | + | ++ |
| | | | | | 15 9-43 | 4.ª | ++ | ++ | 0 | + | + | ++ |

| FICHA | INICIAIS | SEXO | COR | IDADE | DATAS DAS LEITURAS | LEITURAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 765 | L. B..... | M. | Br. | 14 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 1 9-43 | 2.ª | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 925 | A. R..... | M. | Br. | 15 | 24 8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | + | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 904 | J. P. S..... | M. | Br. | 17 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1.111 | L. R. S..... | M. | Br. | 12 | 24-8 43 | 1.ª | 0 | ± | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 8 9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 166 | A. B..... | F. | Br. | 18 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | + | 0 | ± | ± | 0 |
| | | | | | 8 9-43 | 3.ª | 0 | + | 0 | 0 | + | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | + | 0 | 0 | + | 0 |
| 791 | M. N. R..... | F. | Br. | 13 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ± | ± | 0 | ± | ± | 0 |
| | | | | | 8 9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15 9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1.056 | M. A. C..... | F. | Br. | 28 | 24 9-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | + | + | ± |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | + | 0 | 0 | + | 0 |
| | | | | | 15 9 43 | 4.ª | 0 | + | 0 | 0 | + | 0 |
| 458 | A. L. T..... | F. | Br. | 40 | 24 8 43 | 1.ª | ± | ± | 0 | + | 0 | 0 |
| | | | | | 1 9-43 | 2.ª | + | ± | 0 | + | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | + | 0 | + | 0 | ± |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | + | + | 0 | + | 0 | 0 |
| 359 | L. R..... | F. | Br. | 18 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9 43 | 2.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 8 9-43 | 3.ª | 0 | ++ | 0 | 0 | + | 0 |
| | | | | | 15 9-43 | 4.ª | 0 | ++ | 0 | 0 | + | 0 |
| 31 | L. C. J..... | F. | Br. | 22 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | + | + | ± | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ++ | + | ± | ++ | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | ++ | + | ++ | ++ | + | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | ++ | + | ++ | ++ | + | 0 |

GRUPO 9

**FORMA CLINICA L3-N1**

| FICHA | INICIAIS | SEXO | COR | IDADE | DATAS DAS LEITURAS | LEITURAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 30 | A. M. A..... | F. | Br. | 36 | 24 8-43 | 1.ª | + | 0 | 0 | + | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | 0 | 0 | + | 0 | 0 |
| | | | | | 8 9-43 | 3.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15 9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 529 | D. M. J..... | F. | Br. | 18 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1 9-43 | 2.ª | ± | ± | 0 | ± | ± | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | 0 | 0 | + | 0 | 0 |
| | | | | | 15 9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | + | 0 | 0 |

| FICHA | INICIAIS | SEXO | COR | IDADE | DATAS DAS LEITURAS | LEITURAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 683 | M. J. J..... | F. | Br. | 16 | 24-8-43 | 1.ª | ± | 0 | 0 | + | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 762 | B. D. S..... | F. | Br. | 18 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | + | 0 | + | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 798 | N. A..... | F. | Br. | 32 | 24-8-43 | 1.ª | + | 0 | + | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 371 | B. C..... | F. | Br. | 61 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | ± | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | ± | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 786 | M. R..... | F. | Br. | 17 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | 0 | 0 | ± | 0 |
| | | | | | 1-8-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | + | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 903 | C. M..... | F. | Mor. | 35 | 24-8-43 | 1.ª | ± | ± | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ± | ± | ± | ± | ± | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | 0 | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | + | 0 | 0 |
| 541 | V. M. J..... | F. | Br. | 18 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | 0 | + | + | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | ++ | + | 0 | ++ | ++ | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | ++ | 0 | 0 | ++ | ++ | 0 |
| 835 | L. C..... | F. | Br. | 20 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 724 | M. N. S..... | F. | Br. | 18 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | + | + | ++ | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | + | + | ++ | 0 | 0 |
| 493 | B. P. L..... | F. | Br. | 23 | 24-8-43 | 1.ª | ± | ± | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ± | 0 | ± | ± | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | 0 | + | + | + | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | + | 0 | + | + | + | 0 |
| 968 | R. C. J..... | F. | Br. | 65 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | ± | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | + | 0 | + | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | + | + | 0 | + | 0 | 0 |
| 419 | E. V. N..... | F. | Br. | 26 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | ± | + | + | 0 |
| | | | | | 1-8-43 | 2.ª | 0 | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | + | + | 0 |
| 709 | M. B. J..... | F. | Br. | 16 | 14-8-43 | 1.ª | + | + | + | 0 | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 504 | C. C. A..... | F. | Br. | 38 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | + | 0 | 0 | + | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | + | 0 | 0 | + | 0 |
| 800 | R. C. M..... | F. | Br. | 25 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | + | + | + | + | + | 0 |

| FICHA | INICIAIS | SEXO | COR | IDADE | DATAS DAS LEITURAS | LEITURAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 672 | M. E. S..... | F. | Pr. | 23 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | 0 | + | ++ | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | + | ++ | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | + | ++ | 0 | 0 |
| 645 | A. V. C..... | F. | Br. | 23 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

## GRUPO 10

### FORMA CLINICA L3-N2

| FICHA | INICIAIS | SEXO | COR | IDADE | DATAS DAS LEITURAS | LEITURAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 717 | J. M. J..... | F. | Pr. | 16 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8 9-43 | 3.ª | + | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | + | + | + | 0 | + | 0 |
| 397 | R. S..... | M. | Pr. | 15 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | + | + | + | + | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8 9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 983 | A. F. S..... | F. | Br. | 22 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | + | 0 | + | 0 | 0 |
| | | | | | 15 9-43 | 4.ª | 0 | + | 0 | + | 0 | 0 |
| 480 | L. C..... | M. | Br. | 15 | 24 8-43 | 1.ª | + | + | + | + | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

## GRUPO 11

### COMUNICANTES

| FICHA | INICIAIS | SEXO | COR | IDADE | DATAS DAS LEITURAS | LEITURAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 76 | J. C. A..... | F. | Br. | 36 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | 0 | + | + | + |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | 0 | + | + | + |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | 0 | 0 | + | ++ | ++ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | + | + | + | ++ | ++ | ++ |
| 66 | R. A. M..... | F. | Br. | 29 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | + | + | + | + |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | ++ | + | + | + |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 154 | R. C. M..... | F. | Br. | 72 | 24 8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | + | + | + |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | ++ | ++ | 0 | ++ | ++ |

GRUPO 12

## CRIANÇAS DESTINADAS AO PREVENTORIO

| FICHA | INICIAIS | SEXO | COR | IDADE | DATAS DAS LEITURAS | LEITURAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 160 | I. M..... | F. | Br. | 10 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1 9-43 | 2.ª | + | + | 0 | + | + | + |
| | | | | | 8-9 43 | 3.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | 0 |
| 125 | E. A..... | F. | Br. | 10 | 24 8-43 | 1.ª | + | + | + | + | + | + |
| | | | | | 1 8 43 | 2.ª | + | + | + | + | + | + |
| | | | | | 8 9-43 | 3.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 161 | C. M..... | M. | Br. | 3 | 24 9-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1 9 43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8 9 43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 162 | A. M..... | M. | Br. | 7 | 24 8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9 43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 156 | J. F..... | M. | Br. | 16 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | + | + | + | + | + |
| | | | | | 1-9 43 | 2.ª | + | + | 0 | + | + | 0 |
| | | | | | 8-9 43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9 43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 114 | C. A. S..... | M. | Br. | 12 | 24-8 43 | 1.ª | + | ± | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9 43 | 2.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | + |
| | | | | | 8-9 43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | + |
| | | | | | 15-9 43 | 4.ª | + | 0 | 0 | 0 | 0 | ++ |

GRUPO 13

## PESSOAS EM OBSERVAÇÃO

| FICHA | INICIAIS | SEXO | COR | IDADE | DATAS DAS LEITURAS | LEITURAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 89 | S. R..... | M. | Br. | 7 | 24-8-43 | 1.ª | ± | ± | 0 | + | + | + |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | + | + | + |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | ++ | ++ | ++ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | ++ | ++ | ++ |
| 47 | P. B..... | M. | Br. | 10 | 24-9-43 | 1.ª | + | + | + | ± | + | + |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | 0 | + | + |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | ++ | ++ | 0 | 0 | ++ | + |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | ++ | ++ |
| 133 | J. C. L..... | M. | Br. | 8 | 24-8-43 | 1.ª | ± | + | 0 | + | + | + |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | + | 0 | ++ | + | ++ |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | ++ | 0 | ++ | ++ | ++ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | ++ | 0 | ++ | ++ | ++ |
| 43 | M. P..... | F. | Br. | 12 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 124 | T. T..... | F. | Br. | 4 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | + | + | + | + |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | + | + | + |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | ++ | ++ | ++ | + | + | ++ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | ++ | ++ | ++ | + | + | ++ |

| FICHA | INICIAIS | SEXO | COR | IDADE | DATAS DAS LEITURAS | LEITURAS | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6 | C. R. N..... | F. | Br. | 6 | 24-8-43 | 1.ª | ± | + | + | 0 | 0 | + |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | + | + | 0 | 0 | + |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | + | + | 0 | 0 | + |
| | | | | | 15-8-43 | 4.ª | 0 | + | + | 0 | 0 | + |
| 75 | M. C..... | F. | Br. | 13 | 24-8-43 | 1.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 63 | E. M..... | F. | Br. | 63 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 19 | M. A. S..... | F. | Br. | 12 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | + | + | + | + |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| 149 | A. R..... | F. | Br. | 25 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | + | + | + | + |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | ++ | ++ | ++ | + | ++ | ++ |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | ++ | ++ | ++ | + | ++ | ++ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | ++ | ++ | ++ | + | ++ | ++ |
| 17 | A. A..... | M. | Br. | 3 | 24-8-43 | 1.ª | + | + | + | + | + | + |
| | | | | | 1-9-43 | 2.ª | + | + | + | + | + | + |
| | | | | | 8-9-43 | 3.ª | 0 | ++ | ++ | ++ | 0 | ++ |
| | | | | | 15-9-43 | 4.ª | 0 | ++ | ++ | ++ | 0 | ++ |

## APRECIAÇÃO DOS RESULTADOS

GRUPO 1

No grupo 1, formado por 8 doentes da forma clínica L1, verificamos ao fim da quarta leitura, que:

A leprolina 1 foi negativa em 6 casos e positiva em 2.
A leprolina 2 foi negativa em 5 casos e positiva em 3.
A leprolina 3 foi negativa em 5 casos e positiva em 3.
A leprolina 4 foi negativa em todos os casos.
A leprolina 5 foi negativa em 7 casos e positiva em 1.
A lepromina foi negativa em todos os casos.

(No doente número 867, em vez de lepromina, usamos caldo glicerinado, que não produziu reação).

Pelos resultados acima resumidos, verificamos que a leprolina 4 se comportou idênticamente á lepromina. No cômputo geral dos resultados certificamos que na evolução das reações do grupo 1 as leprolinas apresentaram uma sensibilidade maior em face do organismo leproso, o que é notado pela leitura semanal das mesmas.

GRUPO 2

No grupo 2 formado por 7 enfermos da forma clínica N1, verificamos ao fim da quarta leitura, que:

A leprolina 1 foi negativa em 5 casos e positiva em 2.
A leprolina 2 foi negativa em 4 casos e positiva em 3.
A leprolina 3 foi negativa em 4 casos e positiva em 3.
A leprolina 4 foi negativa em 3 casos e positiva em 4.
A leprolina 5 foi negativa em 6 casos e positiva em 1.
A lepromina foi negativa em 3 casos e positiva em 4.

Nos casos relacionados como positivos à leprolina 5 e à lepromina apresentaram resultados duvidosos no doente número 1.029. Neste grupo a leprolina 4 mais uma vez forneceu resultados idênticos á lepromina. Quanto à sensibilidade das reações, neste grupo, levando-se em conta a forma clínica e o comportamento da lepromina, notamos por parte das leprolinas um índice maior de negatividade, que segundo a interpretação clássica deve ser considerado como casos de mau prognóstico.

GRUPO 3

No grupo 3, formado por 3 enfermos da forma clínica N2, verificamos ao fim da quarta leitura, que:

A leprolina 1 foi negativa em 1 caso e positiva em 2.
A leprolina 2 foi positiva nos 3 casos.
A leprolina 3 foi negativa em 1 caso e positiva em 2.
A leprolina 4 foi negativa em 1 caso e positiva em 2.
A leprolina 5 foi negativa em 1 caso e positiva em 2.
A lepromina foi positiva em todos os casos.

Neste grupo constatamos que as leprolinas e a lepromina apresentaram resultados idênticos nos doentes 824 e 995. No paciente 336 a leprolina 2 se comportou idênticamente á lepromina.

GRUPO 4

No grupo 4, formado por 6 enfermos da forma clínica N3, verificamos ao fim da quarto leitura, que:

A leprolina 1 foi positiva em 4 casos e negativa em 2.
A leprolina 2 foi positiva em todos os casos.
A leprolina 3 foi positiva em 4 casos e negativa em 2.
A leprolina 4 foi positivo em 5 casos e negativa em 1.

A leprolina 5 foi positiva em 4 casos e negativa em 2.
A lepromina foi positiva em todos os casos.

Neste grupo, as leprolinas se comportaram idênticamente à lepromina nos doentes 944, 1.121, 841 e 1.118.

GRUPO 5

No grupo 5, formado por 11 doentes de forma clínica L1-N1, verificamos ao fim da quarta leitura, que:

A leprolina 1 foi positiva em 3 casos e negativa em 8.
A leprolina 2 foi positiva em 3 casos e negativa em 8.
A leprolina 3 foi positiva em 2 casos e negativa em 9.
A leprolina 4 foi positiva em 2 casos e negativa em 9.
A leprolina 5 foi positiva em 2 casos e negativa em 9.
A lepromina foi negativa em todos os casos.

Pelos resultados acima enumerados, constatamos que a lepromina apresentou um índice de negatividade completo, ao passo que sòmente as leprolinas 3, 4 e 5 foram as que mais se aproximaram do resultado da lepromina.

GRUPO 6

No grupo 6, formado por 3 enfermos da forma clínica L2-N2, verificamos ao fim da quarta leitura, que:

A leprolina 1 foi positiva em 1 caso e negativa em 2.
A leprolina 2 foi positiva em 2 casos e negativa em 1.
A leprolina 3 foi positiva em 1 caso e negativa em 2.
A leprolina 4 foi negativa nos 3 casos.
A leprolina 5 foi positiva em 2 casos e negativa em 1.
A lepromina foi positiva em 1 caso e negativa em 2.

Pelos resultados acima, constatamos um índice de negatividade total apresentado pela leprolina 4. As leprolinas 1, 3 e a lepromina apresentaram resultados idênticos.

GRUPO 7

No grupo 7, formado por 6 enfermos da forma clínica L1-N2, verificamos ao fim da quarta leitura, que:

As leprolinas 1, 2, 4 e 5 apresentaram resultados negativos.
A leprolina 3 foi positiva em 1 caso e negativa em 5.
A lepromina foi negativa em todos os casos.

Pelos resultados acima verificamos que sòmente a leprolina 3 apresentou resultado diferente das outras leprolinas e da lepromina.

GRUPO 8

No grupo 8, formado por 24 doentes da forma clínica L2-N1, verificamos ao fim da quarta leitura, que:

A leprolina 1 foi positiva em 8 casos e negativa em 16.
A leprolina 2 foi positiva em 12 casos e negativa em 12.
A leprolina 3 foi positiva em 6 casos e negativa em 18.
A leprolina 4 foi positiva em 7 casos e negativa em 17.
A leprolina 5 foi positiva em 9 casos e negativa em 15.
A lepromina foi positiva em 2 casos e negativa em 22.

Pelos resultados acima, constatamos que a leprolina 3 foi a que mais se aproximou do índice fornecido pela lepromina.

GRUPO 9

No grupo 9, formado por 19 enfermos da forma clínica L3-N1, verificamos ao fim da quarta leitura, que:

A leprolina 1 foi positiva em 4 casos e negativa em 15.
A leprolina 2 foi positiva em 5 casos e negativa em 14.
A leprolina 3 foi positiva em 2 casos e negativa em 17.
A leprolina 4 foi positiva em 9 casos e negativa em 10.
A leprolina 5 foi positiva em 5 casos e negativa em 14.
A lepromina foi negativa em todos os casos.

Pelos resultados acima, constatamos que a lepromina apresentou um índice de negatividade total e a leprolina 3 foi a que mais se aproximou dos resultados verificados com a lepromina.

GRUPO 10

No grupo 10, formado por 4 enfermos da forma clínica L3-N2, verificamos ao fim da quarta leitura, que:

As leprolinas 1, 3, 4 e 5 foram positivas em 1 caso e negativas em 3.
A leprolina 2 foi positiva em 2 casos e negativas em 2.
A lepromina foi negativa em todos os casos.

Pelos resultados acima verificamos que houve concordância de resultados das leprolinas, 1, 3, 4 e 5. Êstes resultados foram os que mais se aproximaram da lepromina, cujo resultado foi negativo.

GRUPO 11

No grupo 11, formado por 3 pessoas comunicantes, verificamos ao fim da quarta leitura, que:

A leprolina 1 foi negativa em 1 caso e positiva em 2.
A leprolina 4 foi negativa em 1 caso e positiva em 2.
As leprolinas 2, 3, 5 apresentaram resultados positivos.
A lepromina foi positiva em todos os casos.

Pelos resultados acima, verificamos que as leprolinas 2, 3 e 5 apresentaram resultados idênticos á lepromina.

GRUPO 12

No grupo 12, formado po 6 crianças candidatas ao internamento em Preventório, verificamos ao fim da quarta leitura, que:

A leprolina 1 foi positiva em 3 casos e negativa em 3.
A leprolina 2 foi positiva em 2 casos e negativa em 4.
A leprolina 3 foi positiva em 2 casos e negativa em 4.
A leprolina 4 foi positiva em 2 casos e negativa em 4.
A leprolina 5 foi positiva em 2 casos e negativa em 4.
A lepromina foi positiva em 2 casos e negativa em 4.

Neste grupo as leprolinas e a lepromina apresentaram resultados idênticos no doente 125. No paciente 160 as leprolinas foram positivas ao invés da lepromina, que foi negativa. No observado 114 a leprolina 1 apresentou resultado idêntico á lepromina. Na apreciação geral as leprolinas 2, 3, 4, 5 e a lepromina apresentaram o mesmo índice de positividade e negatividade.

GRUPO 13

No grupo 13, formado por 11 pessoas internadas no pavilhão de observação, verificamos ao fim da quarta leitura, que:

A leprolina 1 foi positiva em 4 casos e negativa em 7.
A leprolina 2 foi positiva em 7 casos e negativa em 4.
A leprolina 3 foi positiva em 5 casos e negativa em 6.
A leprolina 4 foi positiva em 6 casos e negativa em 6.
A leprolina 5 foi possitiva em 6 casos e negativa em 6.
A lepromina foi positiva em 8 casos e negativa em 3.

Neste grupo constatamos que a leprolina 2 foi a que mais se aproximou do resultado oferecido pela lepromina.

## RESUMO

GRUPO DOS ENFERMOS NERVOSOS

Num total de 16 casos nervosos, o resumo geral dos resultados foi:
A lepromina foi positiva em 13 casos e negativa em 3.
A leprolina 2 foi positiva em 12 casos e negativa em 4.
A leprolina 4 foi positiva em 11 casos e negativa em 5.
A leprolina 3 foi positiva em 9 casos e negativa em 7.
A leprolina 1 foi positiva em 8 casos e negativa em 8.
A leprolina 5 foi positiva em 7 casos e negativa em 9.

GRUPO DOS ENFERMOS LEPROMATOSOS

Num total de 75 casos lepromatosos o resumo geral dos resultados, foi:
A lepromina foi negativa em 72 casos e positiva em 3.
A leprolina 3 foi negativa em 59 casos e positiva em 16.
A leprolina 1 foi negativa em 56 casos e positiva em 19.
A leprolina 4 foi negativa em 56 casos e positiva em 19.
A leprolina 5 foi negativa em 55 casos e positiva em 20.
A leprolina 2 foi negativa em 48 casos e positiva em 27.

GRUPO DE SADIOS, COMUNICANTES E OBSERVANDOS

Num total de 20 pessoas entre sadios, comunicantes e observandos o resumo geral dos resultados, foi:

A lepromina foi positiva em 13 casos e negativa em 7.
A leprolina 2 foi positiva em 12 casos e negativa em 8.
A leprolina 5 foi positiva em 11 casos e negativa em 9.
A leprolina 3 foi positiva em 10 casos e negativa em 10.
A leprolina 4 foi positiva em 10 casos e negativa em 10.
A leprolina 1 foi positiva em 8 casos e negativa em 12.

## CONCLUSÕES

Pelos resumos acima inseridos, chegamos às seguintes conclusões, quanto à comparação, dos resultados das leprolinas e da lepromina:

1) — No grupo de enfermos nervosos a lepromina foi positiva em 13 casos e negativa em 3.

A leprolina 2 foi positiva em 12 e negativa em 4, sendo assim a que mais se aproximou do resultado da lepromina.

2) — No grupo de enfermos lepromatosos, a lepromina foi negativa em 72 casos e positiva em 3.

A leprolina 3 foi negativa em 59 casos e positiva em 16, sendo assim a que mais se aproximou do resultado da lepromina.

3) — No grupo de pessoas sadias a lepromina foi positiva em 13 casos e negativa em 7.

A leprolina 2 foi positiva em 12 casos e negativa em 8, sendo assim a que mais se aproximou do resultado da lepromina.

4) — Tratando-se de estudo comparativo, julgamos necessário se proceder a uma nova experimentação com leprolinas em dosagens crescentes, para se obter um título de diluição que melhor responda às intradermo-reações, conseguindo-se desta maneira, provavelmente, um produto *standard*.

5) — As leprolinas poderão desempenhar um papel fundamental no prognóstico da lepra, pois pode-se avaliar com mais segurança o estado das defesas orgânicas de cada indivíduo pelo teor do título da leprolina empregada.

6) — Em nenhum dos pacientes submetidos às intradermo-reações pelas leprolinas verificamos alterações em seu estado geral.

7) — Quanto à divergência de resultados verificados nas intradermo-reações pelas leprolinas e lepromina, em alguns casos, deve correr por conta de fatôres individuais comumente verificados entre os portadores ou comunicantes de lepra.

Colônia Santa Fé, fevereiro de 1944 .

1944
IMPRENSA NACIONAL
RIO DE JANEIRO — BRASIL